



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA FUINHA (*Martes foina*): ASPETOS  
ECOLÓGICOS, MORFOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS DE 40 INDIVÍDUOS  
PROVENIENTES DO CENTRO DE ECOLOGIA, RECUPERAÇÃO E VIGILÂNCIA  
DE ANIMAIS SELVAGENS (CERVAS)

Maria Adelaide Kress Pinto Loureiro

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São  
Braz

Doutora Sandra de Oliveira Tavares de Sousa  
Jesus

Dr. Ricardo Manuel Lemos Brandão

ORIENTADOR

Dr. Ricardo Manuel Lemos Brandão

CO-ORIENTADORA

Doutora Anabela de Sousa Santos da  
Silva Moreira

2017  
LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA FUINHA (*Martes foina*): ASPETOS  
ECOLÓGICOS, MORFOLÓGICOS E TOXICOLÓGICOS DE 40 INDIVÍDUOS  
PROVENIENTES DO CENTRO DE ECOLOGIA, RECUPERAÇÃO E VIGILÂNCIA  
DE ANIMAIS SELVAGENS (CERVAS)

Maria Adelaide Kress Pinto Loureiro

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São  
Braz

Doutora Sandra de Oliveira Tavares de Sousa  
Jesus

Dr. Ricardo Manuel Lemos Brandão

ORIENTADOR

Dr. Ricardo Manuel Lemos Brandão

CO-ORIENTADORA

Doutora Anabela de Sousa Santos da  
Silva Moreira

2017  
LISBOA

---

**Agradecimentos:**

Agradeço ao Dr. Ricardo Brandão e à Daniela por todos os conhecimentos transmitidos não só a nível de veterinária, mas também a nível social, pessoal e muito mais. Obrigada por me acenderem mais a chama para a proteção e respeito pelo que nos rodeia e acima de tudo por serem um exemplo de profissionais a seguir. Ao Victor por todos os momentos de lazer, pelas aprendizagens, mas principalmente pela mão amiga sempre que fosse preciso.

À minha coorientadora Professora Anabela Moreira, por todo o conhecimento passado, pela exigência e pela disponibilidade mesmo em tempos complicados. Uma ajuda essencial, pela qual estou muito grata. À Andreia Belas pela conhecimento, paciência e boa disposição com a qual me brindou no curto espaço de tempo que partilhámos, mas que não ficou esquecido.

À minha família (Mãe, Pai, Hugo e Ana) por sempre terem feito os possíveis e impossíveis para que eu concretizasse o meu sonho de criança, e os outros que se seguiram, por terem apoiado todas as minhas decisões, independentemente de concordarem ou não com elas, e nunca terem desistido de mim. Em especial às popotinhas, a minha maior fonte de sorrisos, que todos os dias me enchem o coração.

Aos meus amigos de curso, de Lisboa, de Gouveia, de Erasmus e os de Viseu, que me acompanharam nesta caminhada que chega agora ao fim, pelo bocadinho que cada um deixou dentro de mim e pelo pouquinho que levaram de mim com vocês, a mais bela responsabilidade da vida. Em especial à Sofi, à Nelinha e ao Rúben por tudo... tornando-se impossível descrevê-lo em tão pouco espaço e até por palavras!

Ao olhar dos animais com que me cruzo, especialmente ao da Zuky, por todo o amor e esperança que me transmitem e à Mãe Terra por me permitir esta experiência maravilhosa, chamada vida!

## INTOXICAÇÕES SECUNDÁRIAS SUBLETAIS POR RODENTICIDAS ANTICOAGULANTES EM FUINHAS: ESTUDO RETROSPETIVO DE 21 CASOS ENTRE 2009 E 2015.

### **Resumo:**

Em Portugal a sensibilização para a biodiversidade que possuímos é ainda escassa, sendo da responsabilidade de cada um termos um papel ativo nesta luta. Com esse intuito desenvolveu-se este trabalho, acerca da fuinha (*Martes foina*), pretendendo aprofundar-se o conhecimento sobre este pequeno habitante das florestas e meios urbanos do nosso país, caracterizando-o em diferentes parâmetros: desde a sua morfologia, características anatómicas, reprodutoras, alimentares e epidemiológicas, até ao seu papel no ecossistema, inclusive na sua relação com a espécie humana. Esta relação tende a ser tendencialmente desvantajosa para espécies predadoras de animais considerados pragas, devido ao combate destas últimas com compostos tóxicos não seletivos. Uma das consequências da exposição a estes compostos relaciona-se com intoxicações em doses sub-letais, que podem não ser a principal causa de morte, mas predispor a tal ou ao aumento da morbilidade. Foi com o objetivo de perceber um pouco mais sobre este tipo de efeitos na fuinha (espécie predadora de roedores) que este trabalho foi realizado, com especial incidência nos rodenticidas anticoagulantes. A amostra populacional em estudo inclui 21 amostras de fígado de fuinhas provenientes do Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens (CERVAS) e recolhidas entre os anos de 2009 a 2015. Estas amostras foram analisadas pela técnica da Cromatografia de Camada Fina para deteção de rodenticidas anticoagulantes (RAC) e em nenhuma delas estes compostos foram detetados.

**Palavras-chave:** Fuinha, características morfométricas, Rodenticidas anticoagulantes, Intoxicação sub-letal, Portugal.

## SUB-LETHAL SECONDARY INTOXICATIONS BY ANTICOAGULANT RODENTICIDES IN FUINHAS: A RETROSPECTIVE STUDY OF 21 CASES BETWEEN 2009 AND 2015.

### **Abstract:**

In Portugal, the awareness of the biodiversity we have is still scarce, and it is our responsibility to play an active role in this struggle. With this intention, this study was developed on the stone marten (*Martes foina*), aiming to deepen the knowledge about this small inhabitant of the forests and urban environments of our country, characterizing it in different parameters: morphology, anatomical characteristics, reproduction, diet, epidemiology and their role in the ecosystem, including their relationship with the human species. This relationship tends to be disadvantageous for predatory species of animals considered as pests, due to their combating with non-selective toxic compounds. One of the consequences of these compounds is sub-lethal dose intoxications, which may not be the main cause of death, but predispose to such or increased morbidity. The main goal of this study is to understand a little more about this type of effects in the stone marten (predator species of rodents) that this work was carried out, with special incidence on anticoagulant rodenticides. Thin Layer Chromatography technique was used in 21 liver samples from the Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens (CERVAS) between 2009 and 2015, and no second generation anticoagulant rodenticide was detected in any of the samples.

**Keywords:** Stone marten, Morfometric measures, Second generation anticoagulant rodenticides, Sub-lethal intoxication, Portugal.

## Índice:

<b>1. Introdução:</b>	<b>1</b>
<b>2. Relatório de estágio:</b>	<b>2</b>
2.1 Atividades desenvolvidas no CERVAS:	2
2.2 Atividades desenvolvidas no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa:	4
<b>3. A fuinha:</b>	<b>5</b>
3.1 Caracterização taxonómica:	5
3.2 Morfologia:	5
3.3 Ciclo reprodutivo:	7
3.4 Distribuição geográfica e habitat:	8
3.5 Alimentação:	10
3.6 Papel ecológico:	11
3.7 Epidemiologia das doenças infecciosas e parasitárias:	12
<b>4. Pesticidas rodenticidas:</b>	<b>15</b>
4.1 Rodenticidas anticoagulantes	17
4.2 Toxicodinamia e Toxicocinética dos Rodenticidas Anticoagulantes:	18
4.3 Sinais clínicos e achados necrópsicos:	21
4.4 Exposição a rodenticidas: dados, consequências e soluções:	23
4.5 Diagnóstico etiológico de intoxicações:	27
<b>5. Trabalho prático:</b>	<b>29</b>
5.1 Objetivos:	29
5.2 Material e Métodos:	29
5.2.1. População de <i>Martes foina</i> na área de intervenção do CERVAS:	29
5.2.2. Análise Toxicológica	30
5.3 Resultados:	32
5.3.1. População de <i>Martes foina</i>	32
5.3.2. Análise toxicológica:	40
5.4 Discussão:	41
5.4.1. Análise da população de <i>Martes foina</i> na área de intervenção do CERVAS:	41
5.4.2. Análise Toxicológica:	45
<b>6. Conclusão:</b>	<b>47</b>
<b>7. Bibliografia:</b>	<b>48</b>
<b>8. Anexos:</b>	<b>56</b>
Anexo 1: Tabelas de bases de dados da população de fuinhas que ingressaram no CERVAS:	56
Anexo 2: Protocolo de recolha de dados morfométricos efetuado no CERVAS:	62
Anexo 3: Protocolo de necrópsia efetuado em mamíferos no CERVAS:	63

Anexo 4: Tabela dos pesos dos órgãos das amostras seleccionadas para análise toxicológica. ....	64
Anexo 5: Protocolo da técnica de Cromatografia de Camada Fina utilizado.....	65
Anexo 6: Tabelas de resultados da análise estatística:.....	67



## Índice de figuras:

<b>Figura 1</b> Ação de sensibilização a crianças. ....	4
<b>Figura 2</b> Alimentação de crias de esquilo.....	4
<b>Figura 3</b> Diferença da mancha peitoral entre fuinha (à esquerda) e marta (à direita).....	6
<b>Figura 4</b> Vista frontal do crânio de fuinha.....	6
<b>Figura 5</b> Esquema dimensional da Fuinha ( <i>Martes foina</i> ). ....	7
<b>Figura 6</b> Mapa <i>mundi</i> com esquematização da distribuição geográfica da Fuinha .....	9
<b>Figura 7</b> Fuinha em recuperação no CERVAS alimentando-se.. ....	10
<b>Figura 8</b> Excrementos de fuinha com caroços de milho.....	12
<b>Figura 9</b> Estrutura química da Bromadiolona e da Difenacinona. ....	18
<b>Figura 10</b> Metabolismo hepático da vitamina K e modo de ação dos RAC.....	19
<b>Figura 11</b> Modelo concetual da ecotoxicologia dos rodenticidas.....	24
<b>Figura 12</b> Esquema simplificado da técnica de CCF .....	32
<b>Figura 13</b> Técnica de CCF.....	32
<b>Figura 14</b> Mapa com a distribuição por freguesias das fuinhas ingressadas no CERVAS. .	34
<b>Figura 15</b> Vista lateral de cadáver de fuinha. ....	38
<b>Figura 16</b> Pormenor da cavidade abdominal de fuinha .....	38
<b>Figura 17</b> Imagem microscópica de um achado gástrico (matéria vegetal) .....	39
<b>Figura 18</b> Resultado das placas do cromatograma relativamente ao padrão Coumatetralil.	41
<b>Figura 19</b> Placas de cromatografia .....	41

## **Índice de tabelas:**

<b>Tabela 1</b> Mortalidade de espécies silvestres com suspeita de envenenamento durante o período de 1992-2003. ....	16
<b>Tabela 2</b> Descrição das doses letais e do tempo de semi-vida de diferentes rodenticidas anticoagulantes de 1ª e 2ª geração, em várias espécies. ....	20
<b>Tabela 3</b> Frequência dos achados de necrópsia em animais selvagens mortos por intoxicação por rodenticidas no estado de Nova York.....	<b>Erro! Marcador não definido.</b> 23
<b>Tabela 4</b> Dados morfométricos das fuinhas fêmeas e machos do CERVAS.....	37
<b>Tabela 5</b> Dados morfométricos das fuinhas juvenis e adultos do CERVAS. ....	37
<b>Tabela 6</b> Base de dados das amostras de fuinhas utilizadas (informações demográficas)..	56

## **Índice de Gráficos:**

<b>Gráfico 1</b> Distribuição geográfica das diferentes fontes patogénicas de zoonose .....	14
<b>Gráfico 2</b> Comparação dos ingressos de <i>Martes foina</i> nos Centros de Recuperação CERAS, RIAS e CERVAS, de 2009 a Junho de 2015. ....	33
<b>Gráfico 3</b> Comparação das causas de ingresso nos Centros de Recuperação, de 2009 a Junho de 2015 (associação dos dados do CERAS, RIAS e CERVAS). ....	33
<b>Gráfico 4</b> Distribuição anual dos animais que ingressaram no centro.....	34
<b>Gráfico 5</b> Distribuição por estação de ano, dos animais que ingressaram no CERVAS. ....	35
<b>Gráfico 6</b> Distribuição por sexo/idade, dos animais que ingressaram no CERVAS. ....	35
<b>Gráfico 7</b> Distribuição das causas de ingresso das fuinhas no CERVAS. ....	36
<b>Gráfico 8</b> Distribuição percentual dos conteúdos estomacais. ....	39

## Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos:

CERVAS – Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens.

spp – espécies

PCR – *Polymerase chain reaction*

*M. foina* – *Martes foina*

ICNF – Instituto de Conservação da Natureza e Florestas

IUCN – International Union for Conservation of Nature

PAP – Programa Antídoto Portugal

DL<sub>50</sub> – Dose letal 50%

RAC – Rodenticidas anti-coagulantes

ppm- partes por milhão

CCF – cromatografia de camada fina

CLAR – cromatografia líquida de alta resolução.



## 1. Introdução:

As mudanças ambientais a que se assiste, provocadas por diversos fatores, podem ter consequências desastrosas. É imperativo usar o conhecimento, aliado a um consciente desenvolvimento tecnológico para melhorar o entendimento do ambiente, das espécies e seus habitats, e de todos os fatores passíveis de influenciar a Terra como a conhecemos, podendo assim protegê-la. Em Portugal a sensibilização para a biodiversidade que possuímos é ainda escassa por parte dos meios mais mediáticos, sendo portanto da responsabilidade de cada um, termos um papel ativo nesta luta. Com esse intuito desenvolveu-se este trabalho, acerca da fuinha (*Martes foina*), espécie ainda por muitos desconhecida, nomeadamente a população de fuinhas que deu entrada no Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens (CERVAS), em Gouveia. Pretendeu-se aprofundar o conhecimento sobre este pequeno habitante das florestas e meios urbanos do nosso país, caracterizando-o em diferentes parâmetros: desde a sua origem, morfologia, características anatómicas, reprodutoras, alimentares e epidemiológicas, até ao seu papel no ecossistema, inclusive na sua relação com a espécie humana.

Por outro lado com o avançar dos tempos torna-se irrefutável que as principais causas de perigo para a fauna selvagem são de origem antropogénica, entre elas os venenos. Desde 2004, após a criação do Programa Antídoto Portugal (PAP), que existe uma maior sensibilidade e informação acerca deste tema, no entanto ainda muito trabalho há a ser feito. Uma das componentes que irá ser tratada prende-se com este tema, mais especificamente com as intoxicações em doses sub-letais, que ao provocarem alterações sistémicas, podem não ser a principal causa de morte, mas indiretamente levar a ela. A fuinha como predadora de mamíferos roedores, sendo estes uma praga urbana a nível nacional combatida através de rodenticidas anticoagulantes (RAC), torna-se um alvo indireto deste tipo de intoxicações, já comprovadas em outros animais. As análises toxicológicas foram efetuadas, no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa, utilizando amostras de fígado de fuinha, disponibilizadas pelo CERVAS.

Em Portugal são poucos os estudos feitos a este nível, devendo ser um fator a ter cada vez mais em conta, pois podem servir como medida de resposta a uma maior e melhor preservação das diferentes espécies autóctones.

## **2. Relatório de estágio:**

A presente dissertação teve origem na junção do gosto pessoal da autora pelas áreas de animais selvagens e toxicologia. O estágio curricular consistiu em actividades realizadas no CERVAS, e posteriormente no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. A primeira fase teve a duração de 4 meses, desde 1 de Março a 30 de Junho de 2015, numa média de 7/8 horas diárias, e a segunda de aproximadamente duas semanas, em horário intensivo, de 7 a 21 de Março de 2016. De seguida far-se-á uma breve descrição das principais actividades executadas nos locais e tempo referidos.

### **2.1 Actividades desenvolvidas no CERVAS:**

O CERVAS tem uma localização privilegiada, em pleno Parque Natural da Serra da Estrela, local de características únicas, onde é possível observar-se uma extensa e por vezes inigualável variedade de espécies de fauna e flora. Uma das principais linhas deste Centro é atuar na conservação e gestão das populações de animais selvagens e seus habitats, através da: monitorização ecológica e sanitária, aplicação do Programa Antídoto Portugal (PAP) para deteção e combate ao uso de venenos em meio natural, atua como unidade intermédia na dinâmica de gestão e transferência de informações e amostras, através de parcerias científicas e promover a sensibilização ambiental, direccionada essencialmente para as espécies selvagens. A nível medico-veterinário o trabalho é desenvolvido a partir da receção, tratamento e recuperação de animais silvestres e a sua posterior libertação no local onde foram encontrados. Para assegurar o funcionamento, o CERVAS possui instalações próprias para receção e avaliação dos animais: uma clínica, um laboratório misto de sanidade e ecologia, uma unidade de cuidados intensivos com jaulas de diferentes tamanhos, jaulas exteriores de recuperação, túneis de voo, sala de necrópsia, biotério para produção de alimento e salas de armazenamento de comida e material diverso, bem como um escritório para trabalho técnico (CERVAS, 2008).

No período inicial, de Março a Abril, a casuística foi rara e as actividades práticas de clínica eram executadas apenas no período da manhã. O período da tarde foi ocupado para atualizar e aumentar os conhecimentos teóricos, sobretudo no que respeita às aves. Paralelamente ao tempo de estágio, foram realizadas várias actividades de observação de aves, a destacar a participação nos censos de aves nidificantes de 2015. Esporadicamente houve a participação voluntária em actividades fora do âmbito do estágio curricular, como a execução e venda de artesanato alusivo aos animais silvestres, realizadas com a finalidade de angariação de fundos para o Centro. A partir de Maio, a casuística aumentou consideravelmente, passando a actividade clínica a ser exercida durante a maior parte do dia. Durante o período de estágio houve também oportunidade de participar em variadíssimas actividades de sensibilização ambiental ao ar livre e no Centro (Figura 1). Foi-me permitida a

participação em todas as atividades desenvolvidas, percebendo assim o completo funcionamento de um centro de recuperação de animais selvagens nas suas várias vertentes:

- a) Aprendendo os protocolos de ação desde a receção do animal seguindo o seu percurso até uma possível libertação. Numa primeira fase de avaliação de estado geral do animal, foi-me possível conter e manipular um animal selvagem da forma mais segura para ele e para mim, sempre tendo em atenção aos diversos comportamentos consoante a espécie em questão. Avaliar a condição geral (condição corporal, peso, estado da plumagem/pêlo e presença de lesões), colheita de sangue para análises parasitológicas ou outras, colheita de fezes, limpeza de feridas, imobilização e estabilização de fraturas, assim como preparação e administração de medicação nos casos que se justificava.
- b) A segunda fase corresponde à recuperação do animal, onde consoante o seu prognóstico e afeição seria reavaliado segundo diferentes frequências e contemporaneamente definia-se o melhor plano de tratamento. Aqui pude aprender como fazer alimentação forçada, pensos, enxerto de penas, avaliação da evolução de fraturas, feridas e do comportamento natural selvagem, assim como do prognóstico em geral. No período do estágio tive o privilégio de contactar com um grande número de crias de aves, sobretudo corujas do mato (*Strix aluco*) e corujas das torres (*Tyto alba*), mas também de mamíferos como por exemplo esquilos (*Sciurus vulgaris*) (Figura 2), tendo assim aprendido como e quando alimentá-los, dieta adequada, assim como a mimetizar as condições de habitat naturais.
- c) A última fase prende-se com a decisão de qual será a melhor opção em relação ao futuro daquele animal, se a sua devolução à natureza, se estatuto de animal irrecuperável ou em último recurso, se praticar a eutanásia. Nos casos em que os animais são devolvidos, é também uma oportunidade de educação ambiental e de divulgação do trabalho do CERVAS, tendo também aqui absorvido conhecimentos discursivos em relação a este tema e como abordá-lo nas suas diferentes vias tendo em conta os diferentes públicos – alvo (crianças, adolescentes, idosos, caçadores, etc.).
- d) Adicionalmente ao trabalho clínico, houve oportunidade de realizar autonomamente necrópsias a variados animais pertencentes a diferentes classes. Assim como recolha de amostras para análises.



- e) É também de salientar a coloboração prestada na preparação e alimentação dos animais em recobro/residentes e na limpeza e manutenção das instalações, partes integrantes de qualquer centro de recuperação de animais selvagens.

**Figura 1** Ação de sensibilização a crianças (cedida por Dr. Ricardo Brandão).



**Figura 2** Alimentação de crias de esquilo (cedida por Dr. Ricardo Brandão).



## **2.2 Atividades desenvolvidas no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa:**

O trabalho efetuado no laboratório é parte integrante da componente prática desta dissertação. As amostras utilizadas provêm do banco já existente no Centro e da recolha de novas amostras nas necrópsias efetuadas durante o período de estágio. Houve participação em todo o processo de organização, identificação, acondicionamento e transporte das amostras. No laboratório procedeu-se à seleção das amostras e ao acompanhamento de todo o protocolo analítico: preparação, concentração, extração e análise da amostra, através da metodologia de Cromatografia em Camada Fina (CCF), bem como à interpretação dos resultados.

### 3. A fuinha:

#### 3.1 Caracterização taxonómica:

As condições climáticas em Portugal traduzem-se numa grande variedade de habitats e biótipos, que proporcionam condições favoráveis à manutenção de uma fauna muito diversificada. No entanto, a maioria dos carnívoros silvestres são ainda pouco conhecidos, em grande parte devido aos seus hábitos noturnos e exímia capacidade de camuflagem, não sendo a fuinha uma exceção.

A fuinha, conhecida em muitas regiões de Portugal como papalvo ou papalva, tem o nome científico *Martes foina* (Erxleben, 1777), do Latim *Martes* de dia de Marte e *foina* de fagina, que significa “à volta do Fagus”, isto é, à volta do castanheiro, árvore da qual também se alimenta. Sendo da família dos mustelídeos (*Mustelidae*), em Portugal, o seu parente mais próximo é a marta (*Martes martes*), notoriamente mais conhecida, devido à boa qualidade do seu pêlo, e com a qual pode ser confundida caso o avistamento seja rápido. Para além destas duas espécies existem mais 6, não autóctones, incluídas no género *Martes*: *M. zebellina*, *M. flavigula*, *M. gwatkinsi*, *M. melampus*, *M. penanti* e *M. americana*. Ainda pertencentes à família *Mustelidae*, mas com uma maior diferenciação genética, temos em Portugal a doninha (*Mustela nivalis*), o toirão (*Mustela putorius*), a lontra (*Lutra lutra*) e o texugo (*Meles meles*) (Santos & Matos, 2012).

A *M. foina* encontra-se inserida no anexo III da Convenção de Berna, com o estatuto de espécie de fauna protegida. Em Portugal é considerada não ameaçada, tal como a maioria dos seus parentes mustelídeos (International Union for Conservation of Nature [IUCN], 2016) e apesar da sua caça ser considerada um ato ilegal (Decreto de Lei 338/2001), a situação nem sempre lhe foi favorável. No início do século XX, as suas peles eram muito procuradas, o que em conjunto com atividades cinegéticas, conduziu ao seu desaparecimento em determinadas áreas da Europa, como por exemplo na Holanda, onde se optou por realizar a sua reintrodução (Herr, 2008).

#### 3.2 Morfologia

A fuinha é um pequenos mamífero de pêlo castanho acinzentado, com uma coloração mais clara a nível ventral. A sua característica morfológica mais notável, usada para distinção da marta, é uma mancha branca a creme - que é amarela a alaranjada na marta - na zona do peito e pescoço, dividida por uma faixa longitudinal da mesma coloração que a pelagem (Figura 3). Esta mancha bilobada, que na marta tem um aspeto homogéneo estende-se até à zona frontal das patas anteriores, podendo haver variações no seu comprimento (Powell, 2001).

O corpo comprido, com nariz alongado, olhos circulares e orelhas curtas, quase indistintas, conferem-lhe um aspeto dócil e melancólico (Santos & Matos, 2012). As fuinhas são animais adaptados a trepar, pois os membros curtos, mais escuros do que o resto do corpo, com 5

dedos e garras parcialmente retráteis assim como a cauda comprida (cerca de  $\frac{1}{4}$  do comprimento total), conferem-lhe o equilíbrio necessário. As fêmeas têm dois pares de glândulas mamárias (Powell, 2001). A armadura bucal é constituída por 38 dentes: 12 incisivos, 4 caninos, 12 pré-molares e 4 molares na maxila e 6 molares na mandíbula (Figura 4) (Loy, Spinosi & Carlini, 2004).

As fêmeas pesam entre 1,2 a 1,3kg e os machos entre 1,6 a 1,7kg, podendo no entanto, atingir pesos duas vezes superiores aos das fêmeas (Santos & Matos, 2012). O comprimento do corpo varia entre 40 e 50 cm e a cauda, comprida e espessa, mede entre os 23 e 30 cm (sendo de dimensões inferiores à marta) (Figura 5).

O dimorfismo sexual é descrito nesta espécie e reconhecido principalmente a nível das dimensões corporais e da morfologia craneana (Marinis, Nikolov & Gerasimov, 1990; Rosalino, Santos, Domingos, Rodrigues & Santos-Reis, 2005). Um estudo realizado na Serra de Grândola, tendo como intuito a medição de biometrias em 5 espécies diferentes de carnívoros, concluiu que a fuinha apresenta um dimorfismo sexual marcado, sendo que os machos eram 28% mais pesados e 7% mais compridos relativamente às suas congêneres fêmeas (Rosalino *et al.*, 2005) Segundo o estudo de Loy *et al.* (2004), existe uma diferenciação notável, a nível anatómico, no que diz respeito ao tamanho e forma do crânio, sendo que nos machos é mais largo, com uma constrição pos-orbitária mais estreita, permitindo que uma maior parte do músculo temporal passe pelos processos mandibulares. Este, juntamente com as fibras do músculo zigomático, constitui nos carnívoros um dos principais responsáveis pelo ato da mordedura/mastigação, ou seja, um maior músculo temporal irá permitir uma maior força na dentada, sugerindo que os machos se encontram mais bem adaptados a caçar e matar presas vivas relativamente às fêmeas (Meiri, 2005).

**Figura 3** Diferença da mancha peitoral entre fuinha (à esquerda) e marta (à direita) (Fonte: Arkive).



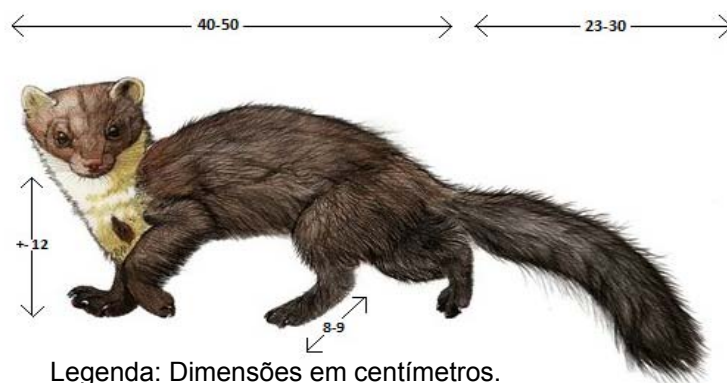
**Figura 4** Vista frontal do crânio de fuinha (Fonte: Arkive)



As diferenças morfológicas encontradas têm sido interpretadas como um mecanismo para reduzir a competição intersexual pela comida, permitindo a cada sexo a exploração de diferentes recursos, em zonas e alturas em que há maiores limitações na diversidade de alimentos, assim como para a caça de presas de diferentes dimensões, e/ou como consequência de sua natureza poligâmica, através da qual os machos de maior porte serão mais favorecidos na competição pelas fêmeas (Santos & Matos, 2012).

A população de fuinhas que habita a zona geográfica mediterrânica é, segundo Rosalino *et al.* (2005), mais leve em relação a outras populações europeias. Esta conclusão vai de encontro à regra de Bergmann, que sugere haver uma correlação inversamente proporcional entre a temperatura ambiental e o tamanho corporal dos animais presentes nesse habitat (Rodríguez, Olalla-Tárraga & Hawkins, 2008). Seguindo esta linha de pensamento, a diferença de peso deverá ocorrer devido aos Invernos menos rigorosos na Península Ibérica relativamente a outros países, não havendo por parte da fuinha necessidade de aumentar o seu peso corporal (Rosalino *et al.*, 2005).

**Figura 5** Esquema dimensional da Fuinha (*Martes foina*) (Fonte: DeviantArt).



### 3.3 Ciclo reprodutivo:

Sendo animais solitários, as principais interações ocorrem sobretudo na época de acasalamento, entre Julho e Agosto, começando em Junho a busca ativa do macho pela parceira. Nestas condições, macho e fêmea podem inclusivamente chegar a dividir abrigo, sem que ocorra disputa de habitat (Herrmann, 1994). De olfato apurado, identificam possíveis parceiros a longas distâncias, normalmente através do cheiro das feromonas presentes nas fezes e urina e dispersas no ar (Herr, 2008).

Em ritual de acasalamento, para chamamento da fêmea, o macho emite um som semelhante ao choro de um cachorro. Uma vez encontrada a parceira, vocaliza de forma idêntica ao canto de uma rola, o que acalma a agressividade inicial com que a fêmea o recebe. O ato de reprodução poderá durar entre 30 a 50 minutos, sendo que o macho controla a fêmea agarrando-a na face dorsal do pescoço, onde possuem uma maior camada

de tecido adiposo. No entanto o parto só irá ocorrer entre os meses de Março a Abril do ano seguinte, isto devido a uma característica também presente noutros mamíferos selvagens, denominada implantação diferida ou ovo-implantação retardada (Santos & Matos, 2012). Este mecanismo deve-se ao fato de, nos mustelídeos as condições mais favoráveis para a criação de descendência estarem relacionadas com maiores períodos de luz diários. Assim sendo, durante o período invernal não ocorre desenvolvimento do blastocisto, dando-se a implantação uterina meses mais tarde aquando do aumento do fotoperíodo, resultante de uma maior libertação da hormona prolactina, pela glândula pituitária (Fenelon, Lefèvre, Banerjee & Murphy, 2016). Devido a esta adaptação evolutiva, a duração total da gravidez pode ir de 230 a 275 dias, mas a gestação propriamente dita, ou seja desde a implantação do embrião até ao parto, é de apenas um mês (Powell, 2001).

Cada ninhada pode ter entre 1 a 5 crias, que nascem cegas e sem pêlo. O desmame dá-se aproximadamente às 7 semanas após nascimento, altura em que começam a tornar-se independentes, sendo que por voltas 11 semanas já caçam e afastam-se gradualmente do ninho, ainda sob supervisão da progenitora. Atingem a maturidade sexual entre os 15 e 27 meses, sendo que grande parte das fêmeas fica gestante já no ano seguinte ao seu nascimento. Em habitat natural vivem em média 3 anos, podendo chegar até aos 10 anos de idade, havendo em cativeiro relatos de fuinhas com 18 anos (Santos & Matos, 2012).

### **3.4 Distribuição geográfica e habitat:**

A sua distribuição geográfica vai desde a costa ocidental da Europa, Portugal, até ao sudoeste da Rússia, abrangendo também zonas mais a sul como a Turquia, Afeganistão, Nepal, Índia e Butão (Figura 6). Nestes últimos encontram-se em pequenas populações que ocupam pontualmente o território do país. A nível europeu, não há registos da sua existência em alguns países escandinavos (Suécia, Finlândia e Noruega), nem nas ilhas mediterrânicas, balcânicas, inglesas e irlandesas (International Union for the Conservation of Nature [IUCN], 2016). Existe uma população selvagem estabelecida, no estado de Wisconsin (Estados Unidos da América), que se terá desenvolvido a partir da introdução antropogénica, para o comércio de peles (Herr, 2008).

Relativamente à sua densidade, os dados existentes em Portugal são ainda muito escassos, havendo apenas a um estudo feito no Alentejo, no qual foram detetados cerca de 7 indivíduos/10km<sup>2</sup> (Santos & Matos, 2012).

Os machos ocupam territórios entre 12 a 211 ha podendo ir até aos 3 km<sup>2</sup>, sobrepondo-se ao de duas a três fêmeas adultas (Herrmann, 1994). A marcação dos territórios dá-se através da deposição das fezes em pequenos montes, as latrinas, podendo ser encontradas em caminhos por onde se deslocam habitualmente ou na proximidade de locais de repouso. Estas funcionam como um sinalizador da presença do indivíduo aos seus conspecíficos ou a

outras espécies, de forma a evitar o confronto direto e consequentemente a perda de energia em lutas territoriais (Virgós, Cabezas-Díaz, Mangas & Lozano, 2010).

**Figura 6** Distribuição geográfica mundial da fuinha (Fonte: Adaptado de López-Martin, 2003)



A fuinha apresenta uma grande plasticidade na ocupação de habitat, resultado não só das diferentes condições climáticas que os países mediterrânicos são sujeitos durante o ano e da existência de diferentes biótopos passíveis de ocupação que podem ser encontrados no mesmo país, assim como da competitividade com outros pequenos carnívoros, como por exemplo a marta (*M. martes*) e a geneta (*Genetta genetta*), que em Portugal são as espécies com comportamento semelhante e, consequentemente, os seus maiores opositores (Pinto & Santos, 1997). A coexistência é possível mas sempre mantendo áreas exclusivas que lhes forneçam os recursos básicos necessários, tendo sido estabelecidas estratégias para a diminuição do confronto direto, nomeadamente uma especialização na exploração da área ocupada e uma ampliação do seu espectro alimentar. A disponibilidade de habitats no território de ocupação da fuinha, condiciona a preferência deste animal (Hermann, 1994), podendo habitar tanto zonas florestais como rurais, sendo as primeiras preferencialmente ocupadas caso não esteja presente a *M. martes* - mais especializada neste tipo de ambientes (Genovesi & Boitani, 1997). Animais que exploram zonas de florestas e campos agrícolas, preferem terrenos cultivados e florestas caducifólias ou mistas, fazendo de buracos nas árvores a sua toca, ou mesmo servindo-se de arbustos de frutos silvestres para se abrigar (Herrmann, 1994; Santos-Reis *et al.*, 2005). Em contrapartida, em ambientes citadinos há uma maior percentagem de ocupação de quintais com galinheiros, pomares, quintas, ruínas e casas (Santos-Reis *et al.*, 2005). Este comportamento sinantrópico, isto é, a afinidade com ambientes habitados, é essencialmente descrito nos países nórdicos, sendo também notado em Portugal, particularmente no norte do país, quer devido à presença dominante da marta (*M. martes*), como às baixas temperaturas inverniais, servindo as habitações humanas como abrigos térmicos (Santos & Santos-Reis, 2009). Desde 1969 que foram detetados os primeiros espécimes em ambientes urbanos, em Madgeburg (Alemanha), vindo desde então a expandir-se, um pouco por toda a Europa



(Herr, 2008). Segundo Herr (2008) em zonas mais urbanizadas a fuinha tenta encontrar principalmente abrigos não habitados, por vezes em mais do que um sítio, tal como acontece com as suas tocas no habitat-natural. No entanto não são raros os relatos de deteção de fuinhas em sótãos de casas habitadas, fábricas (observação pessoal), assim como em quintas com galinheiros (Virgós *et al.*, 2010). A presença de fuinhas em ambientes citadinos faz-se notar principalmente pelos danos provocados e por observações *in situ*, criando conflitos com os residentes (Herr, 2008). No mesmo estudo Herr (2008) conclui que, na maioria dos casos, tratam-se de animais do sexo feminino, na época de Primavera/Verão, com crias, com o intuito de se protegerem de predadores naturais.

Segundo Santos e Santos-Reis (2009), foram também descritas diferentes preferências entre géneros, relativamente aos locais de descanso. Nesse trabalho concluiu-se que as fêmeas ocupavam preferencialmente locais mais afastados das estradas, talvez por serem mais seguros para criação da descendência e mais próximos de correntes de água e árvores de fruto, havendo assim mais facilidade na alimentação. Ainda no mesmo estudo (Santos & Santos-Reis, 2009), realizado na Serra de Grândola, é descrito com pormenor o seu típico hábito noturno – iniciando atividade, em média, 49 minutos após o pôr-do-sol e cessando 41 minutos antes do nascer-do-sol. Nas estações do ano Verão e Outono, associadas a dias com mais horas de luz, os seus hábitos diários dividem-se numa média de 60% do tempo total diário em inatividade (essencialmente durante o período diurno), 30% em locomoção e alimentação e menos de 10% é representativo de pequenos períodos de descanso (essencialmente durante o período noturno). Como seria exetável, nas estações do ano em que se verifica um menor número de horas de luz por dia - Inverno e Primavera - a percentagem de tempo a descansar diminui, aumentando no entanto, a percentagem de pequenas pausas realizadas durante o período noturno.

### 3.5 Alimentação:

No que toca à dieta, a fuinha é um animal oportunista, e, apesar de consumir com maior frequência pequenos roedores (ratos e murganhos) (Figura 7), apresenta grandes variações consoante a disponibilidade do alimento e a época do ano. O seu espectro de alimentação pode ir desde pequenos mamíferos (como coelhos), anfíbios, aves (como galinhas ou pequenos passeriformes) e os seus ovos, diversos invertebrados, até frutos, bagas e vegetais (Papakosta, Kitidou, Bakaladouis & Vlachos,

**Figura 7** Fuinha em recuperação no CERVAS alimentando-se. (Fonte: CERVAS, 2010).



2014). É de salientar o seu importante papel no combate a pragas, uma vez que se alimenta mesmo das mais ferozes como as ratazanas, sendo dos poucos carnívoros caçadores que têm a destreza de as enfrentar.

Lanszki, Sárdi & Széles (2009), estudaram a alimentação de dois grupos de fuinhas distintos, na época de Verão – Outono: um que frequentava habitats mais tipicamente citadinos e outro mais rural, que habitava as periferias. Concluíram que em ambos, os frutos da época apareciam em maior percentagem, seguidos maioritariamente de animais de pequenas dimensões, desde pequenos pássaros a pequenos mamíferos (sobretudo roedores), comprovando assim o seu carácter generalista. Também Pinto e Santos (1997), corroboram a ideia da fuinha ser um carnívoro frugívoro, pois entre as quatro espécies de carnívoros (fuinha, geneta, saca-rabos e raposa) que estudaram na Serra de Grândola (Alto Alentejo, Portugal), a dieta da fuinha era a que apresentava maior biomassa de frutos, estando a pêra presente em maior concentração.

O estudo de Santos-Reis *et al.* (2005) foi levado a cabo durante 3 anos (1997 – 2000), também na zona do Alentejo (Portugal), mostrando que a classe dos insetos obteve o maior peso na dieta da fuinha, seguida de frutas e bagas e com menos de 2%, mamíferos, aves e outros invertebrados. Quando se converteram os dados de ocorrência em biomassa, os resultados não surpreenderam: as frutas tornaram-se o mais importante (essencialmente consumidas nos meses do Verão e Outono), sendo a pêra o fruto presente em quase todas as amostras, seguidas dos mamíferos e aves (essencialmente consumidos nos meses de Inverno e Primavera) e por fim insetos. O rato do campo (*Apodemus sylvaticus*) e o rato das hortas (*Mus spretus*) foram os mamíferos predados com maior frequência; dentro dos insetos foram os besouros e grilos e dentro da classe das aves, os passeriformes. Todas as áreas de estudo incluíam árvores de fruto, o que indica que poderá ser uma condição que influencia a dispersão das fuinhas.

Paralelamente, em períodos de escassez de alimento, pode explorar os contentores de lixo urbanos, havendo relatos de ter sido encontrado armazenado em seus ninhos: ração de cão e gato e restos de lixo doméstico (bolos, casca de ovo, queijo, etc) (Herrmann, 1994; Lanszki *et al.*, 2009)

### **3.6 Papel ecológico:**

Todos os animais têm um papel importante e característico na manutenção do equilíbrio e da biodiversidade. A fuinha, sendo um mesopredador, serve como alimento para animais com dimensões superiores à sua, podendo ser predada por aves como gavião (*Accipiter nisus*), bufo (*Bubo bubo*) ou águia-real (*Aquila chrysaetos*) e mamíferos como a raposa (*Vulpes vulpes*) ou o gato selvagem (*Felis silvestris*). Contribui para o equilíbrio do ecossistema em que habita, alimentando-se de animais mais pequenos, muitas vezes considerados pragas (Lanszki *et al.*, 2009). Assim sendo, têm um importante papel na



exterminação de pragas, principalmente ratos e ratazanas, tanto a nível doméstico como de explorações agrícolas (Santos & Matos, 2012). Tem também um papel de relevo na disseminação de sementes e caroços a curtas e longas distâncias, que sendo expelidos pelas fezes (Figura 8), levam a um aumento da abundância e diversidade da flora nessas zonas (CERVAS, 2010).

Facilmente se compreende que, atividades antropogénicas que levem a uma destruição do *habitat* florestal ou à sua fragmentação (como por exemplo através da construção de estradas) resultam num declínio desta espécie, e consequentemente na diminuição de certos tipos de árvores, como a cerejeira, ou de arbustos de frutos silvestres (Virgós *et al.*, 2010).

Outras ameaças consistem na morte por caça ilegal e atropelamento, sendo que num troço de 40km no Alentejo foram encontradas 16 fuinhas mortas, apenas durante uma estação do ano (Santos & Matos, 2012).

**Figura 8** Excrementos de Fuinha com caroços de milho (Fonte: WildinFrance).



### **3.7 Epidemiologia das doenças infecciosas e parasitárias:**

A aproximação deste mamífero a ambientes humanizados e/ou vice-versa, levou a um crescimento da preocupação direcionada para a problemática das zoonoses. São diversas as afeções transmitidas através de fauna silvestre, pelo contacto direto/indireto com excreções (fezes, urina, saliva) ou através de vetores (mosquitos, canídeos, roedores, entre outros) (Mackenstedt, Jenkins & Tomig, 2015), sendo os roedores a classe mais associada à transmissão de zoonoses. Apesar de nos trópicos haver uma maior biodiversidade, é nas regiões de climas temperados, especialmente Europa e Rússia, que se verifica uma maior incidência de zoonoses (Gráfico 1) (Han *et al.*, 2016).

O primeiro relato, a nível europeu, de *Canine Distemper Virus* ou Vírus de Esgana na fuinha ocorreu na Alemanha (Frölich *et al.*, 2000), seguido do trabalho no sul de França, onde das 21 análises realizadas, 33% revelaram-se positivas (Philippa *et al.*, 2008) e mais recentemente, em 2012, foi descrito o primeiro foco na Bélgica (Tavernier *et al.*, 2012). Em todos estes estudos, os resultados comprovaram uma ligação genética entre o vírus presente no cão e na fuinha, corroborando a hipótese de transmissão de Esgana entre eles.

Segundo o estudo de Steck e Wandeler, em 1980, citados por Muller *et al.* (2004), realizado num foco epizootico de raiva na Suíça, a prevalência do vírus era de 2,6% nas fuinhas, fazendo desta espécie um hospedeiro no ciclo silvestre deste vírus. Na Alemanha, em 2001, análises feitas ao cérebro de uma fuinha, foram positivas para o mesmo vírus (Muller *et al.*, 2004).

Estudos feitos em Portugal, entre 1999 e 2006 (Santos, Almendra & Tavares., 2009), demonstraram a presença de Parvovírus em 3 das 17 amostras de fuinhas analisadas, tendo estudos comparativos realizados na Alemanha, obtido a mesma prevalência (cerca de 17%) (Tavernier *et al.*, 2012).

No estudo de Lempp *et al.* (2017) é feita referência ao caso de uma fuinha ter sido infetada com gripe aviária (H5N1), após se ter alimentado de aves positivas ao vírus.

Moinet *et al.* (2010), analisaram 19 amostras de fuinha para a presença de *Leptospira spp.*, obtendo 89% de resultados positivos, no entanto ainda não é claro o papel deste mustelídeo na transmissão da bactéria em questão.

Em 2012, na Suíça, foi relatado um caso de Tularémia (*Francisella tularensis*) numa fuinha que não apresentava lesões típicas desta afeção. Sabe-se ainda muito pouco acerca do papel da fuinha no ciclo biológico da bactéria, visto que é uma doença maioritariamente observada em lagomorfos, roedores e primatas (Origgi, Nu & Pilo, 2013). Também a bactéria *Bacillus anthracis*, apesar de afetar maioritariamente mamíferos herbívoros, foi detetada em três fuinhas, no jardim zoológico na Dinamarca. Ambas as bactérias podem ser transmitidas a humanos e a animais domésticos, podendo transformar-se num risco para a saúde pública, se não for devidamente controlado (Hugh-Jones & de Vos, 2002).

O protozoário *Toxoplasma gondii*, origina a Toxoplasmose, uma zoonose parasitária maioritariamente associada ao gato, mas também já descrita na *M. foina* num estudo feito em Espanha por Sobrino *et al.*, publicado em 2007, onde das 20 amostras analisadas, 17 se revelaram positivas. No ano seguinte, os mesmos autores publicaram um estudo acerca da Neosporose, uma afeção causada por um protozoário que afeta desde ruminantes domésticos a cães, tendo sido detetada a sua presença em fuinhas (Sobrino *et al.*, 2008b).

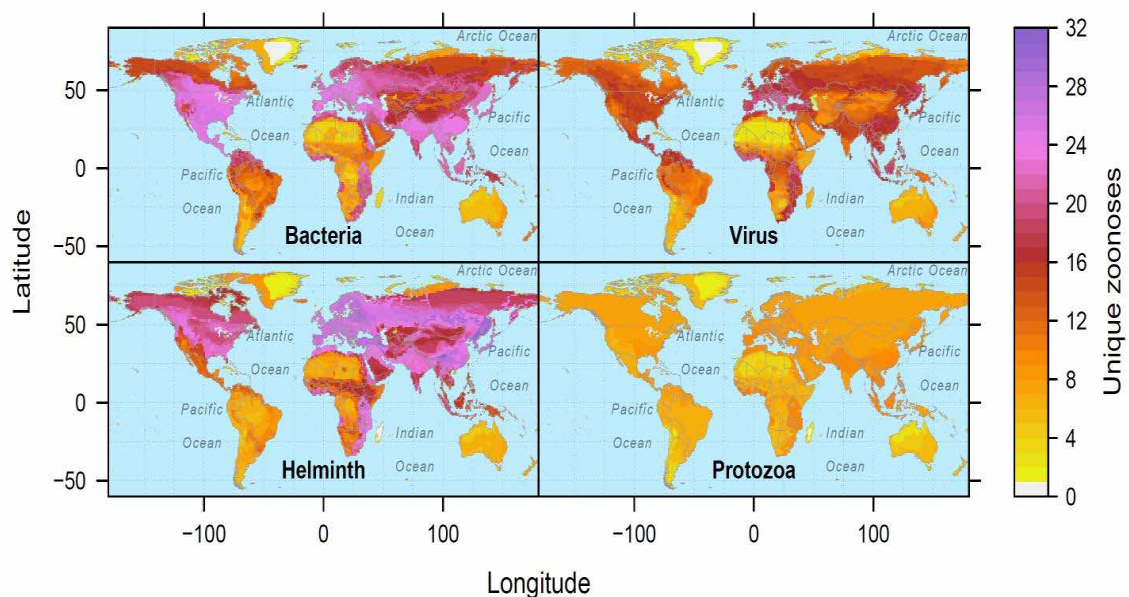
São diversos os estudos (Del Río *et al.*, 2014; Muñoz-Madrid *et al.*, 2013; Sobrino *et al.*, 2008a) que confirmam que o ciclo selvático da *Leishmania infantum* passa também pela fuinha. Através da técnica de biologia molecular PCR (*Polymerase Chain Reaction*), foi detetada a presença deste parasita, em estudos que abrangiam a Península Ibérica.

Apesar de em Portugal ainda não estar documentado o contributo da *M. foina* na transmissão de *Trichinella spp.*, sabe-se que este nemátode zoonótico está mundialmente distribuído em carnívoros selvagens e domésticos. No leste europeu, onde a aproximação da fuinha aos humanos é maior, a prevalência desta parasitose na *M. foina* é notável, havendo países como a Letónia e a Lituânia onde se detetou em 45,8% de 142 amostras (Berzina, Jahundovica & Kirjusina, 2014), motivo pelo qual a vigilância em relação a esta

zoonose, nesses países, é muito mais contundente. Além dos referidos também se incluem nas zoonoses parasíticas encontradas em fuinhas agentes como: *Echinococcus multilocularis*, *Taenia* spp., *Alaria alata*, *Uncinaria stenocephala*, *Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis* e *Toxascaris leonina* (Lempp *et al.*, 2017)

Vetores como pulgas, carraças e ácaros podem, por si só, provocar doenças ou ser transmissoras das mesmas, sendo que no hemisfério Norte, as carraças do género *Ixodes* são as que disseminam o maior número de patógenos (Mackenstedt *et al.*, 2015). Alguns estudos foram feitos no sentido de pesquisar quais os artrópodes mais presentes na fuinha e todos chegam à conclusão de que as espécies *Ixodes hexagonus* e *Ixodes Ricinus*, são as encontradas numa taxa mais elevada. Em relação às pulgas verifica-se um maior número de infestação por *Pulex irritans* e *Ctenocephalides felis* (Domínguez-Peñafiel, Giménez-Paro, Gegúnde & Lledó, 2011; Hofmeester & van Wieren., 2015).

**Gráfico 1** Distribuição geográfica das diferentes fontes patogénicas de zoonose (Fonte: Han, Kramer & Drake, 2016)



#### 4. Pesticidas rodenticidas:

O uso comercial de pesticidas data do século XIX, mas desde a antiguidade, que compostos naturais, como a planta do tabaco (*Nicotiana tabacum*) ou compostos químicos, como o enxofre, eram utilizados para o controle de pragas. Considerando pragas como qualquer microrganismo, vegetal ou animal indesejado pelo Homem, facilmente se conclui que tais substâncias se tornaram mais populares entre as atividades agrícola, pecuária e cinegética (Instituto Nacional de Saúde [INSA], 2011).

Dada a crescente produção agrícola e os cada vez mais conhecidos efeitos adversos de certos compostos até então utilizados, a produção sintética de pesticidas aumentou consideravelmente após a 2ª Guerra Mundial (Nobrega, 2014). Atualmente, os pesticidas podem ser classificados segundo a finalidade a que se destinam: herbicidas, para controle de plantas infestantes; rodenticidas usados contra roedores que ocupam tanto ambientes fechados (palheiros e armazéns) como campos agrícolas e florestais; moluscicidas, para controle de moluscos como caracóis ou lesmas; acaricidas para carraças e aranhas; fungicidas, para controle de fungos; inseticidas, para o combate a insetos; e piscicidas e avicidas, direcionados para os peixes e aves, respetivamente (INSA, 2011).

A explosão demográfica do século XX e a consequente crescente demanda de alimento, levou a um aumento exponencial do uso de pesticidas, apesar dos seus efeitos nocivos largamente conhecidos na saúde pública e ambiental – dos quais se destaca a contaminação dos solos e das águas e a presença de resíduos nos alimentos - bem como na saúde animal, especialmente nas espécies selvagens predadoras e necrófagas (INSA, 2011). A fauna selvagem pode ser afetada, quer pela exposição direta ao pesticida, dita primária, através da ingestão de iscos, quer por exposição indireta, dita secundária, através de presas intoxicadas (Nobrega, 2014). Em ambas as situações a exposição pode dar-se tanto de forma intencional ou acidental (Eason, Murphy, Wright & Spur, 2002).

A legislação é clara quanto à proibição do uso de venenos como forma de extermínio, vigente no quadro legislativo europeu através das Diretivas: 79/409/CEE (conservação das aves silvestres), artigo 8º e 92/43/CEE (conservação dos habitats naturais e da fauna e flora silvestres), artigo 15º. A nível nacional, esta interdição encontra-se não só ao abrigo da transposição das Diretivas citadas (Decreto Lei 140/99), como da transposição da Convenção de Berna (Decreto Lei 316/89) e ainda pela Lei da Caça (Decreto Lei 202/2004). O uso indevido de xenobióticos chega a levar, em muitos casos, a um estatuto preocupante de espécies, como por exemplo no caso do abutre do Egipto, uma espécie que se encontra em perigo a nível da Península Ibérica (Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas [ICNF], 2017) e que, segundo Hernández e Margalida (2009), a maior causa do seu declínio deve-se ao uso ilegal de venenos, associado a uma ausência de supervisão. Também a extinção de duas espécies de aves, o quebra ossos (*Gypetus barbatus*) nos Alpes e na Andaluzia, em Espanha e da águia real no Parque Nacional da Peneda-Gerês,

em Portugal, deu-se sobretudo devido ao uso massivo de venenos (Programa Antídoto Portugal [PAP], 2004).

Ao abrigo do PAP, fez-se um estudo retrospectivo dos casos de envenenamento de animais silvestres e domésticos, entre 1999 e 2003, concluindo-se que as espécies necrófagas são as mais afetadas. Possivelmente as espécies alvo seriam os cães e gatos assilvestrados, lobos e mamíferos de pequeno a médio porte como a raposa e o javali, pois são os que mais ataques fazem às espécies pecuárias e cinegéticas (Álvares, 2003). A estricnina foi a substância encontrada com maior frequência nas análises feitas à fauna envenenada (PAP, 2004).

A Tabela 1 mostra a frequência absoluta e relativa dos animais com fortes suspeitas ou confirmação de morte por envenenamento entre 1992 e 2003, estando representado apenas um caso de fuinha. É, contudo, de salientar que a baixa frequência de avistamentos destes animais pode ser um fator limitante para uma adequada avaliação da situação. Os resultados da recolha de dados num período de 11 anos, reuniu aproximadamente 500 casos, o que se estima estar muito aquém da realidade (PAP, 2004). Comparando com a situação na zona fronteiriça da Andalúzia (Espanha), nos anos de 2001 e 2002, foram analisados 8347 carcaças e iscos, dos quais 5497 foram positivos aos testes toxicológicos efetuados. De todas as espécies presentes, 124 indivíduos eram de espécies consideradas em perigo e ameaçadas. Um episódio de envenenamento em 2003, em Idanha a Nova, onde 33 grifos, 3 abutres-pretos e 3 milhafres-reais morreram devido ao fato de se terem alimentado de um cadáver de ovelha com veneno destinado a matar cães assilvestrados, reflete esta problemática e suas consequências para as espécies não-alvo, (PAP, 2004).

**Tabela 1** Mortalidade de espécies silvestres com suspeita de envenenamento durante o período de 1992-2003 (Fonte: PAP, 2004).

<b>Espécie</b>	<b>Nome comum</b>	<b>Nº indivíduos mortos</b>	<b>Percentagem (%)</b>
<i>Gyps fulvus</i>	<b>Grifo</b>	<b>42</b>	<b>25,7</b>
<i>Vulpes vulpes</i>	Raposa	30	18,4
<i>Canis lupus</i>	Lobo	24	14,7
<i>Ciconia ciconia</i>	Cegonha-Branca	14	8,5
<i>Milvus milvus</i>	<b>Milhafre-Real</b>	<b>13</b>	<b>7,9</b>
<i>Aegypius monachus</i>	<b>Abutre-Negro</b>	<b>10</b>	<b>6,1</b>
<i>Buteo buteo</i>	Águia-de-asa-redonda	8	4,9
<i>Neophron percnopterus</i>	<b>Abutre do Egipto</b>	<b>6</b>	<b>3,6</b>
<i>Aquila chrysaetus</i>	Águia-Real	3	1,8
<i>Milvus migrans</i>	Milhafre-Preto	3	1,8
<i>Genetta genetta</i>	Geneta	3	1,8
<i>Herpestes ichneumon</i>	Sacarrabos	2	1,2
<i>Martes foina</i>	Fuinha	1	0,6
	Outras	4	2,4

Como foi referido anteriormente, a fuinha é um carnívoro versátil relativamente ao habitat e à dieta, preferindo, contudo, zonas florestais e o consumo de pequenos mamíferos roedores. Deste modo, apesar de não se excluírem nenhuma outra classe de pesticidas, pensa-se que os rodenticidas poderão ter repercussões subvalorizadas nesta espécie, devido a intoxicações crónicas com possíveis efeitos sub-letais que podem eventualmente levar à morte do animal (PAP, 2004).

#### **4.1 Rodenticidas anticoagulantes:**

Os roedores causam prejuízos acentuados a nível económico, nomeadamente na agricultura mas têm também um grande impacto na Saúde Pública, sendo vetores de vários agentes patogénicos aos quais o Homem é suscetível (Erickson & Urban, 2004). Assim, tendo os rodenticidas um importante papel no seu controlo, são compostos de uso frequente e generalizado, principalmente em atividades agrícolas (Berny, 2011).

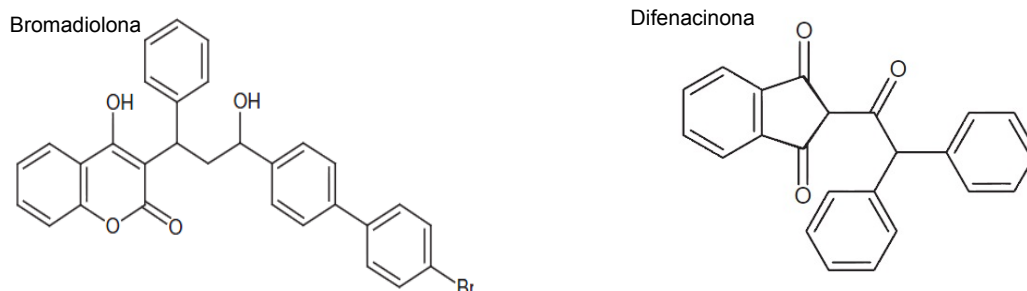
As substâncias utilizadas como rodenticidas são várias e com modos de ação distintos (McDonald, Harris, Turnbull, Brown & Fletcher, 1998), entre os quais se encontram os compostos anticoagulantes, sendo o Difenacume o único que consta na lista de biocidas autorizados em Portugal (Direção-Geral de Alimentação e Veterinária [DGAV], 2017). Os compostos pertencentes a esta categoria interferem com a reação de redução da vitamina K, necessária à formação dos fatores de coagulação II, VII, IX, X, levando à depleção destes e consequentemente predispondo os animais a hemorragias copiosas, eventualmente fatais (Berny, 2011).

A descoberta dos antagonistas da vitamina K deu-se em 1939, após o relato de hemorragias em gado alimentado com silagem fermentada de trevo, tendo sido identificada como substância responsável o Dicumarol (rodenticida de 1ª geração) (Gamelin & Harry, 2005). Os primeiros compostos desenvolvidos, entre 1948 e 1960, foram classificados como rodenticidas de primeira geração, também chamados de dose múltipla, como por exemplo a Varfarina, a Pindona e o Coumatetril (Brakes & Smith, 2005). Devido à tolerância adquirida pelos roedores a estes compostos (Stone, Okoniewski & Stedelin, 1999), entre 1970 e 1980 surgiram os anticoagulantes de segunda geração, ou de dose única, como por exemplo: o Difenacume, a Bromadiolona e o Brodifacume. Estes são mais potentes, pois têm uma maior afinidade para a enzima sobre a qual atuam e uma metabolização mais lenta (Brakes & Smith, 2005).

Os rodenticidas anticoagulantes (RAC) ou dicumarínicos podem dividir-se em dois grupos consoante a sua estrutura química: hidroxycumarínicos e indandionas. Os hidroxycumarínicos, são os derivados da cumarina, têm um anel 4-hidroxycumarínico variando as ligações da cadeia lateral na posição 3. Os mais comuns são a Bromadiolona, Brodifacume, Coumatetril, Difenacume e Varfarina. As indandionas, com um modo de ação similar aos anteriores, têm um anel 1,3-indanediona, com diferentes ligantes na

posição 2 da cadeia. Os RAC mais utilizados nesta categoria são a Difacinona e a Clorofacinona (Figura 9) (Berny, 2011).

**Figura 9** Estrutura química da Bromadiolona e da Difenacinona (Fonte: Adptado de Berny, 2011).



#### 4.2 Toxidinamia e Toxicocinética dos Rodenticidas Anticoagulantes:

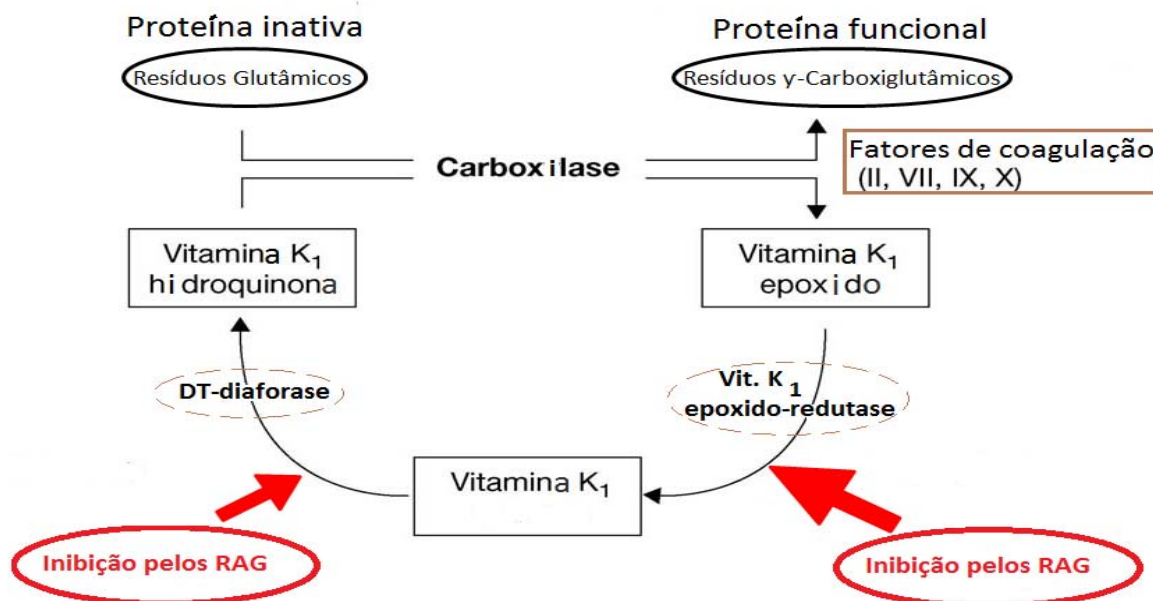
A vitamina K é um cofator indispensável à síntese de diversos fatores de coagulação que se formam no fígado e a sua síntese é dependente da vitamina K hidroquinona (forma reduzida da vitamina K) transformando-a em vitamina K epóxido, através de uma carboxilase (Berny, 2011). Esta última é necessária à carboxilação das proteínas precursoras dos fatores de coagulação – Prototrombina (Fator II), Proconvertina (Fator VII), Fator de Christmas (Fator IX) e Fator de Stuart-Prower (Fator X) - convertendo os seus resíduos glutamínicos em gamacarboxiglutamínicos, permitindo-lhes assim ligarem-se ao cálcio (cofator da coagulação), e tornando-se biologicamente ativas, ou seja só assim os fatores de coagulação se tornam proteínas funcionais. A vitamina K epóxido é depois regenerada, em dois passos, por uma epóxido redutase, voltando à sua forma reduzida e fechando assim um ciclo *turn-over* permanente (Figura 10) (Gamelin & Harry, 2005).

Os RAC atuam ao nível das redutases, essencialmente da epóxido redutase, bloqueando-a, não permitindo a regeneração da vitamina K para a sua forma ativa. Consequentemente, após a exaustão da forma ativa da vitamina K, os precursores dos fatores de coagulação dependentes da vitamina K não podem ser ativados (Berny, 2011).

Os compostos de 2ª geração têm uma maior potência dada a maior afinidade para a vitamina K<sub>1</sub> epóxido-redutase assim como da capacidade de inibir o metabolismo hepático da vitamina K em dois pontos distintos (Berny, 2011).



**Figura 10** Metabolismo hepático da vitamina K e modo de ação dos RAC (Fonte: Adaptado de Gamelin & Harry, 2005).



A cinética dos dicumarínicos de 2ª geração é bicompartimental, com uma distribuição inicial rápida de alguns dias, seguida de uma fase terminal de eliminação lenta, durante semanas, enquanto nos RAC de 1ª geração a sua eliminação é monofásica (Brakes & Smith, 2005). Devido às suas características lipofílicas e à circulação entero-hepática, os RAC de 2ª geração absorvidos voltam ao trato gastrointestinal (TGI), contribuindo assim para que seu tempo de semivida seja mais longo do que o dos rodenticidas de 1ª geração (Berny, 2011). Os dicumarínicos de segunda geração são mais persistentes no organismo em relação aos de primeira geração, de maneira que, apesar de muitas vezes serem descritos como sendo de rápida eliminação, a alusão é normalmente à parte do composto que não foi absorvido, sendo excretado na sua forma biológica ativa através das fezes. Pode também ser uma referência à *clearance* destes compostos a nível da circulação sanguínea relativamente à sua retenção no tecido conjuntivo, dada a sua alta lipossolubilidade (Erickson & Urban, 2004). No estudo de Parmar *et al.* (1987), citado por Erickson e Urban (2004), em ratos, foi determinando que o tempo de semi vida dos compostos Brodifacume, Bromadiolona e Difenacume (rodenticidas de 2ª geração), era numa primeira fase de 2 a 8 dias, e numa fase terminal mais lenta de 130, 170 e 120 dias, respetivamente. Em comparação, usando Clorofacinona (rodenticida de 1ª geração), 90% do composto era eliminado nas primeiras 48 horas, principalmente através das fezes, e os restantes 10% num prazo de 4 dias. Os mesmos autores concluíram que 10 dias após a administração de uma dose única (0,25 mg/kg) de Brodifacume em ratos, 74,6% do composto ainda era detetada no organismo. Este tempo é espécie - dependente como é mostrado por Eason, Wright e Batcheler (1996), num estudo sobre o cusu-comum (*Trichosurus vulpecola*), onde foram detetadas concentrações hepáticas de Brodifacume 8 meses após a exposição, com poucos



decréscimos na concentração após a primeira semana. Também no estudo de Rueda, Campbell, Fisher, Cunninghame & Ponder (2016) na ilha dos Galápagos chegaram à mesma conclusão. Dado que, aquando da aplicação de Brodifacume para controlo de uma população de roedores invasivos, foi feita a monitorização de lagartos endémicos, obtiveram concentrações detetáveis do tóxico em 250 amostras hepáticas, 850 dias após a aplicação dos iscos. Contemporaneamente adaptaram como medida preventiva a captura de 60 falcões dos galápagos, tendo sido libertados entre 12-14 dias após a aplicação do rodenticida, 32 dos quais com transmissores telemétricos. 170 dias depois, verificaram a morte de 22 falcões, tendo todas as amostras de fígado analisadas obtido um resultado positivo aos testes toxicológicos realizados (Rueda *et al.*, 2016).

Ao nível da metabolização, Eason *et al.* (2002) indicaram que, de um modo geral, as maiores concentrações de anticoagulantes encontram-se no fígado, sendo que nos pulmões e rins as concentrações são moderadamente altas.

Enquanto os anticoagulantes de 1ª geração têm uma toxicidade aguda moderada, com uma Dose Letal 50 (DL<sub>50</sub>) por via oral, entre 10-50 mg/kg de peso corporal, os anticoagulantes de 2ª geração têm uma DL<sub>50</sub> via oral de 0,2-3,9 mg/kg de peso corporal, tendo portanto uma periculosidade mais elevada (Tabela 2) (Eason *et al.*, 2002).

**Tabela 2** Doses letais (via oral) e tempo de semi-vida de eliminação de diferentes rodenticidas anticoagulantes de 1ª e 2ª geração, em várias espécies (Adaptado de: Stone *et al.*, 1999<sup>1</sup> e Eason *et al.*, 2002<sup>2</sup>).

Tóxico	Varfarina	Difacinona	Bromadiolona	Brodifacume
Espécie				
<b>Coelho</b>	DL <sub>50</sub> =800 mg/kg <sup>1</sup>	DL <sub>50</sub> =35 mg/Kg <sup>1</sup>	DL <sub>50</sub> =1.75 mg/kg <sup>1</sup>	DL <sub>50</sub> =0.29 mg/kg <sup>1</sup>
	T <sub>1/2</sub> plasma=6 horas <sup>1</sup>			T <sub>1/2</sub> plasma=60 horas <sup>2</sup>
<b>Rato</b>	DL <sub>50</sub> =50-100 mg/kg <sup>1</sup>	DL <sub>50</sub> =1.5 mg/kg <sup>1</sup>	DL <sub>50</sub> =1.25 mg/kg <sup>1</sup>	DL <sub>50</sub> =0.27 mg/kg <sup>1</sup>
	T <sub>1/2</sub> plasma=18 horas (machos) 28 horas (fêmeas) <sup>1</sup>		T <sub>1/2</sub> plasma=25-57 horas <sup>2</sup>	T <sub>1/2</sub> plasma=156 horas <sup>2</sup>
<b>Porco</b>	DL <sub>50</sub> =3 mg/kg <sup>1</sup>	-----	T <sub>1/2</sub> fígado=170 dias <sup>2</sup>	T <sub>1/2</sub> fígado=>80 dias
			-----	DL <sub>50</sub> =0.5-2 mg/kg <sup>1</sup>
<b>Cão</b>	DL <sub>50</sub> =50 mg/kg <sup>1</sup>	DL <sub>50</sub> =3 mg/Kg <sup>1</sup>	DL <sub>50</sub> =11-15 mg/kg <sup>1</sup>	DL <sub>50</sub> =0.25-1 mg/kg <sup>1</sup>
				T <sub>1/2</sub> plasma=0.9-4.7 dias <sup>2</sup>

Um estudo comparativo entre três anticoagulantes de 1ª geração e três anticoagulantes de 2ª geração (Stone *et al.*, 1999), mostrou que 33% das Corujas-das-torres (*Tyto alba*) alimentadas com ratos intoxicados com rodenticidas de 2ª geração, nomeadamente

Brodifacume, Bromadiolona e Difenacume, morreram, enquanto não houve nenhuma morte registrada nos animais alimentados com ratos envenenados com rodenticidas de 1ª geração. Um tóxico que é metabolizado ou excretado mais rapidamente, normalmente resulta num menor risco comparativamente a tóxicos bioacumuláveis ou com uma excreção mais lenta (Erickson & Urban, 2004; Berny, 2011). Sendo os RAC de 2ª geração compostos com baixa taxa de degradação metabólica, o risco de desencadeamento de efeitos aumenta em casos de exposições sub letais reiteradas no tempo, devido ao aumento da concentração do xenobiótico em circulação (Eason *et al.*, 2002).

#### **4.3 Sinais clínicos e achados necrópsicos:**

Os primeiros sinais clínicos de intoxicação aparecem geralmente 3 a 7 dias após a ingestão do rodenticida, uma vez que a integridade dos mecanismos de coagulação é mantida até os fatores de coagulação já presentes se degradarem naturalmente (Berny, 2011).

Como o mecanismo de ação dos RAC envolve, de forma indireta, a alteração dos mecanismos de coagulação, qualquer coagulopatia ou consequência direta desta, estará em evidência no diagnóstico de intoxicação por dicumarínicos (Stone *et al.*, 1999). Hemorragias através dos orifícios corporais ou hemorragias agudas e extensas em lesões cutâneas superficiais ou mesmo na ausência de lesões, são os primeiros sinais de um animal possivelmente intoxicado (Erickson & Urban, 2004), sendo muitas vezes também causa de morte (Stone, Okoniewski & Stedelin, 2003; Fournier-Chambrillon *et al.*, 2004). Erickson e Urban (2004) relataram casos de animais intoxicados que apresentavam hemorragias copiosas provenientes de pequenas feridas ou traumas, acabando por levar à morte do animal, o que possivelmente não aconteceria em animais não intoxicados.

A maioria dos estudos relativos a esta temática têm como sujeito o cão, retratando que por vezes os únicos sinais clínicos do animal intoxicado são: dispneia, letargia, anorexia, depressão, fraqueza, anemia, desidratação, hipotermia, taquicardia, poliúria, polidipsia e hematomas ventrais. Menos frequentemente também se pode verificar edema pulmonar, efusão pericárdica e pleural, hemorragia intratraqueal e obstrução laríngea. Ao nível dos achados laboratoriais: o hemograma apresenta leucocitose com neutrofilia, hipocromasia, valores inferiores aos valores padrão do hematócrito e do volume corpuscular médio; nas análises bioquímicas pode ser encontrada hipoproteinemia, hipoalbuminemia, hiperglicemia, bilirrubinemia e valores acima da média de ureia, fosfatase alcalina e gama glutamil transferase. Na urianálise pode estar presente proteinúria, hematúria; na análise do sedimento eritrócitos e nas provas de coagulação ocorre um aumento do tempo da protrombina (Stone *et al.*, 1999; Valchev, Binev, Yordanova & Nikolov, 2008).

Segundo diversos autores (Brown & Singleton, 1998; Stone *et al.*, 2003; Brakes & Smith, 2005), roedores e outros animais que ingeriam iscos contaminados apresentavam alterações comportamentais, afastando-se dos seus refúgios e expondo-se mais em zonas abertas. Em exames *post-mortem* realizados a animais com estes sintomas, observaram-se

hemorragias cerebrais, o que pode justificar o seu comportamento anormal (Brakes & Smith, 2005). Também se verifica um aumento do tempo de resposta de fuga e descoordenação dos movimentos como resultado de hemorragias intra-articulares (Fournier-Chambrillon *et al.*, 2004; Brakes & Smith, 2005). Consequentemente ocorre um aumento da vulnerabilidade destes animais à predação, caça ou traumas acidentais, podendo surgir uma tendência para o predador alterar a composição da sua dieta, caso se traduza num menor esforço de caça, sendo que animais com dietas oportunistas, como os mustelídeos, ficam em maior risco de consumirem presas intoxicadas (Álvares, 2003; Fournier-Chambrillon *et al.*, 2004).

Estas hemorragias sub-letais verificadas tanto em presas como predadores podem predispor a doenças infecciosas e parasitológicas (Stone *et al.*, 2003). Vários estudos (Riley *et al.*, 2007; Serieys, Armenta, Moriarty & Riley, 2015) associam positivamente as infestações parasitárias e a deteção de RAC, contudo mais estudos são necessários para determinar se a facilidade dos artrópodes se alimentarem se deverá a uma maior imobilização ou ao fato dos mecanismos de coagulação estarem comprometidos (Mourad *et al.*, 2012).

Os RAC podem ainda afetar crias dependentes de seus progenitores, quando estes as alimentam com roedores intoxicados que irão provocar alterações no seu normal desenvolvimento. Isto é demonstrado no estudo de Martínez-Padilla *et al.* (2016), onde as crias de peneireiro-vulgar (*Falco tinnunculus*) positivas à presença de Brodifacume no sangue apresentavam um peso corporal 6,7% inferior às crias em que o composto não foi detetado.

A nível do sistema cardiovascular, no exame *post-mortem* encontra-se uma redução do volume de sangue cardíaco associado a um ingurgitamento das veias, tamponamento cardíaco e hemopericárdio (Stone *et al.*, 1999). Também a nível de achados na necrópsia estão relatados hemoperitонеu, hemotórax, hemorragias pulmonares (mais frequentes em mamíferos), hemorragias renais subcapsulares e hidronefrose, TGI hemorrágico, hemorragias e hematomas uterinos e vaginais, hemorragias sub cutâneas, hematomas abdominais, hemorragias e hematomas hepáticos com necrose do parênquima hepático e vacuolização dos hepatócitos (Stone *et al.*, 1999; Stone *et al.*, 2003; Valchev *et al.*, 2008).

Na Tabela 3 encontra-se a descrição da ocorrência dos achados necrópsicos mais frequentes em casos de intoxicação em animais selvagens, segundo trabalhos realizados por Stone *et al.* (1999), onde como esperado, quase todos os sistemas se apresentavam hemorrágicos.

**Tabela 3** Frequência dos achados de necrópsia em animais selvagens mortos por intoxicação por rodenticidas no estado de Nova York (Fonte: Adaptado de Stone *et al.*, 1999).

Achados na necrópsia	Frequência	
	Aves (n=25)	Mamíferos (n=27)
Hemorragias subcutâneas	+++	+++
Anemia	+++	++
Hemorragias pulmonares	+	+++
Hemorragias inter/intra muscular	++	++
Edema subcutâneo	+	++
Líquido hemorrágico livre na cavidade corporal	++	+
Alimento no trato digestivo	+	++
Hemorragias extensas de pequenos ferimentos	++	-
Pequeno volume de sangue no coração/veias	++	-
Hemorragias no trato digestivo	+	+
Hemorragias pericárdicas	-	+
Hemorragias intra-uterinas	NA	+

Legenda: Informação de caráter qualitativo pois os dados obtidos variavam no detalhe da informação, assim sendo: +++ (frequente - > 50%); ++ (ocasional - 10-50%); + (pouco frequente - <10%); - (não observado); NA (não aplicável).

Em 1984, o Brodifacume foi usado para controle da população de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), sendo que das 43 carcaças encontradas, 52% apresentavam hemorragias massivas na cavidade abdominal, 17% na cavidade torácica e 31% hemorragias musculares, do ceco, estômago, rins, mesentério e placenta (nos casos em que se encontravam gestantes) (Stone *et al.*, 1999).

#### 4.4 Exposição a rodenticidas: consequências e soluções:

Os rodenticidas representam um perigo para todo o ecossistema, com risco variado consoante o composto e o seu potencial tóxico, a suscetibilidade intrínseca do animal para o composto em questão e a probabilidade de exposição, nomeadamente o comportamento do roedor no estado mórbido, a localização da sua carcaça (acima ou abaixo do solo) e a via de transferência do veneno (Smith, Cox & Rampaud, 1990; Eason *et al.*, 2002; Laakso, Suomalainen & Koivisto, 2010).

A figura 11 representa um modelo conceptual bastante simples, proposto por Smith *et al.* (1990), focando-se na ecotoxicologia de um sistema biológico e descrevendo o movimento de um rodenticida no ambiente. Tendo em conta o mecanismo de ação pouco seletivo destes xenobióticos e que, como já referido, a maioria dos roedores não procura a sua toca quando se encontra em estado mórbido (Fournier-Chambrillon *et al.*, 2004), haverá uma maior possibilidade de predadores que se alimentam de pequenos mamíferos roedores, animais necrófagos e carnívoros oportunistas sejam afetados, como é o caso da fuinha

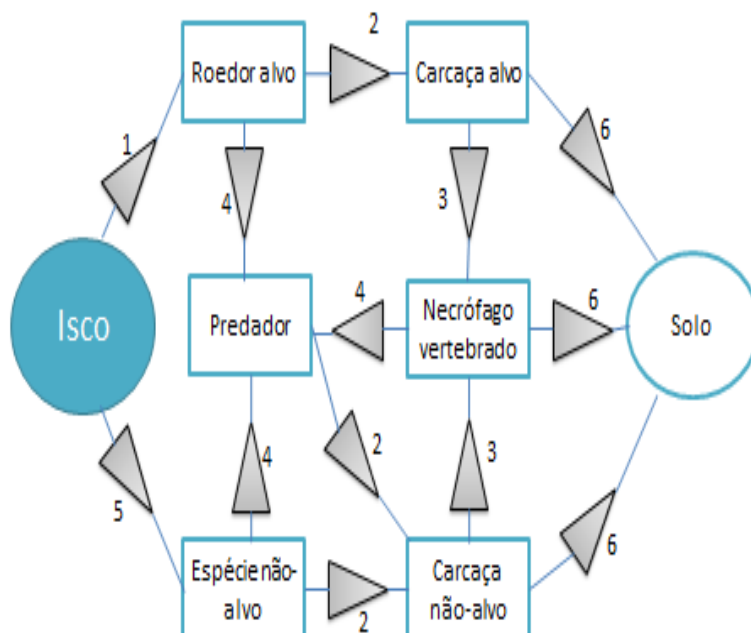
(Álvares, 2003). Alguns estudos referem que cerca de 17% dos iscos destinados a roedores são ingeridos por espécies não-alvo (Thorsen, Shorten, Lucking & Lucking, 2000).

Em Inglaterra, no ano de 1987, foram relatadas por Shawyer, C. R., citado por Stone *et al.* (1999), intoxicações de várias espécies como a coruja do mato (*Strix aluco*), a águia de asa redonda (*Buteo buteo*), a pega rabuda (*Pica pica*) e a raposa vermelha (*Vulpes vulpes*), possivelmente devido à utilização de iscos com Brodifacume, numa quinta onde estas espécies se alimentavam. No trabalho de Stone *et al.* (1999), 49% das amostras das 265 aves de rapina analisadas continham resíduos de rodenticidas no fígado, tendo sido o composto Brodifacume identificado na maioria das amostras.

Em França, durante um estudo de monitorização da fauna selvagem que decorreu ao longo de um período de 4 anos, foram encontrados nas imediações de zonas onde houve aplicação de rodenticidas, cadáveres de raposas, abutres, garças e doninhas com hemorragias internas. Paralelamente o composto Bromadiolona foi encontrado no fígado de 180 cadáveres pertencentes às seguintes espécies: fuinhas, raposas, abutres, milhafres, coelhos, lebres, javalis, veados, lince, texugos e garças (Berny, Buronfosse, Lamarque, & Lorgue, 1997).

Num estudo realizado em 2011, na Dinamarca, analisaram-se 530 cadáveres de mustelídeos, aves rapinas e corujas, concluindo-se que os RAC estavam presentes em cada grupo numa percentagem de 83 a 97% (Elmeros, Christensen & Lansen, 2011b).

**Figura 11** Modelo conceitual da ecotoxicologia dos rodenticidas (Adaptado de Smith, Cox & Rampaud, 1990)



**Legenda:**

1. Ingestão primária do isco de rodenticida pelo roedor alvo.
2. Mortalidade devido a envenenamento primário ou secundário de indivíduos alvo e não alvo.
3. Ingestão de carcaças por necrófagos vertebrados.
4. Predação de vertebrados alvo e não alvo.
5. Ingestão primária do isco por roedores não-alvo.
6. Transferência do tóxico das carcaças para o solo.

Na análise feita ao fígado de 40 arminhos (*Mustela erminea*) e 10 doninhas (*Mustela nivalis*), mortos por caçadores em zona de caça do território nacional inglês, 9 arminhos e 3 doninhas continham resíduos hepáticos de Bromadiolona, Brodifacume e Coumatetraril (McDonald *et al.*, 1998). Noutro estudo incidente nas mesmas espécies, onde se analisaram os fígados de 61 arminhos e 69 doninhas, concluiu-se que as concentrações de RAC eram maiores em animais com causa de morte desconhecida. A presença de RAC foi de 97% nas amostras de arminho e 95% nas de doninhas (Elmeros, Christensen & Lansen, 2011a).

Shore, Birks, Afsar, Wienburg & Kitchener (2003) realizaram um estudo incidente na temática dos RAC de 2ª geração, analisando 29 amostras de fígado e estômago de toirões, mortos por atropelamento, apanhados em armadilhas para roedores e um dos casos com morte por causa desconhecida. Em 31% das amostras houve deteção de xenobióticos, verificando-se uma maioria percentual do composto Difenacume, seguido da Bromadiolona e do Brodifacume. Também no projeto de conservação incidente em 4 espécies de mustelídeos (Fournier-Chambrillon *et al.*, 2004), das 122 amostras totais, 16 delas continham resíduos de RAC e em 11 o composto detetado foi a Bromadiolona. Previamente à elaboração das análises, em apenas 3 das amostras positivas a RAC a causa de morte foi atribuída uma possível intoxicação, dado a presença de hemorragias massivas e má condição corporal. Os restantes 13 animais tinham sido atropelados, apanhados por armadilhas ou predados por outros animais.

A problemática do uso indiscriminado de RAC em zonas rurais e urbanas e as consequências da exposição crónica na fauna selvagem, essencialmente nos predadores de roedores, são ainda pouco estudadas em Portugal. Birks (1998) estudou, em Inglaterra, o risco da utilização de rodenticidas em campos agrícolas e nas suas periferias, onde haveria possibilidade de toirões usarem estes locais para alimentação. Onze toirões foram monitorizados por sistemas de localização e observou-se que frequentavam maioritariamente campos agrícolas com alta densidade de roedores e consequentemente maior uso de rodenticidas. Durante o tempo de estudo deu-se a morte de dois destes animais, sendo que um foi encontrado morto junto a um celeiro e o outro morto por atropelamento. As posteriores análises toxicológicas ao fígado, revelaram concentrações de 1,4 mg/kg e 0,3 mg/kg de Difenacume, respetivamente.

O fato de noutro estudo de monitorização de toirões em espaços rurais (Shore *et al.*, 2003), terem sido detetados entre dois a três xenobióticos diferentes em 22% das amostras analisadas, pode mostrar uma possível utilização de diferentes explorações pelo mesmo animal, o que contribui para um maior risco de intoxicação.

Há uma relação positiva entre o uso de rodenticidas em zonas de exploração intensiva de gado e a intoxicação de espécies não-alvo, dado os RAC serem muito utilizados para proteger as rações e plantas usadas na alimentação do gado dos roedores. Nas análises feitas em amostras de fígado de raposa (espécie predadora não alvo), provenientes de

diferentes zonas da Alemanha, o Brodifacume foi detetado em 55 a 100% das amostras provenientes dos distritos com a densidade mais elevada de explorações pecuárias (Geduhn, Jacob, Schenke, Keller & Ester, 2015).

Em Espanha 344 cadáveres de aves e mamíferos carnívoros, de 11 espécies diferentes, apresentaram prevalências de RAC de 62,8%, que se acredita estarem diretamente correlacionadas com uma maior densidade populacional humana (López-Perea *et al.*, 2015). Analogamente um estudo de 16 anos realizado no lince-pardo (*Lynx rufus*), animal com hábitos sinantrópicos e decorrido em duas zonas distintas da Califórnia (uma natural e outra urbana), conclui que há uma maior exposição aos RAC em zonas mais residenciais (Serieys *et al.*, 2015). Contudo, noutras espécies, em que os roedores não fazem usualmente parte da sua dieta, também foram encontrados resíduos hepáticos de RAC. Tal como no estudo já mencionado de Fournier-Chambrillon *et al.* (2004), realizado em mustelídeos, onde foram detetados RAC em 3 das 11 lontras analisadas. Este animal, apesar de ter uma dieta oportunista, apresenta uma distinta preferência por se alimentar de peixes e crustáceos (Lanszki, Morocz & Conroy, 2010). Mourad *et al.* (2012) descreveram a presença de RAC em 79% das 58 análises feitas à marta-pescadora (*Martes pennanti*), animal que só consome roedores em caso de necessidade, dado o seu caráter generalista. Em Espanha, um estudo abrangente analisou 401 animais selvagens e domésticos encontrados mortos, dos quais 155 continham resíduos de RAC. Destes, 38% eram mamíferos carnívoros e a classe com maior prevalência era a dos passeriformes granívoros, tendo a maioria dos casos vindo de uma mesma região onde houve aplicação de Clorofacinona (isco granulado) para o controle de ratos (Sánchez-Barbudo, Camarero & Mateo, 2012).

Não só mamíferos e aves são susceptíveis aos RAC, sendo os seus efeitos visíveis em todas as classes, como demonstrado no estudo já mencionado (Rueda *et al.*, 2016), onde se comprovou que 270 lagartos autóctones da ilha das Galápagos continham resíduos de RAC no fígado, possivelmente devido a alimentarem-se de invertebrados que consomem os iscos com RAC (Koivisto *et al.*, 2016). Também o estudo de Berny (2011), no qual o sujeito foi o Ouriço-cacheiro (*Erinaceus europaeus*), mostra que é possível este acumular dicumarínicos, sendo que a sua dieta também é maioritariamente composta por insetos. Uma amostra de insetos da ordem *Coleoptera* (*Dermestes spp*), recolhida numa zona de quintas presumivelmente livres do uso de RAC, continha concentrações de 0,39 µg/g de Difacinona (Elliott *et al.*, 2014).

A formulação química dos próprios compostos também contribui para a sua periculosidade, sendo maior nos mais persistentes, que se bioacumulam com a exposição reiterada no tempo, mesmo em doses sub-letais e/ou temporalmente intercaladas. Este fato torna-se ainda mais alarmante quando animais presentes na cadeia alimentar do Homem, como por exemplo o porco e o javali, mostram sinais de biomagnificação de xenobióticos, podendo afetar também o Homem (Eason *et al.*, 2002).

Ericsson e Urban (2004), sugerem a utilização de biomarcadores de exposição, para um melhor entendimento do mecanismo de ação destes compostos através da cadeia alimentar. Laakso *et al.* (2010) referem que a aplicação de corantes em iscos evita a sua ingestão por passeriformes, não interferindo na preferência dos roedores e torna-se também uma forma de monitorização de pesticidas não evasiva através da análise das fezes coloridas em espécies não-alvo (Berny, 2011).

Paralelamente, o objetivo de um controle de pragas deveria almejar mais no sentido de reduzir os danos provocados pelos roedores em vez da espécie em si, evitando-se assim a perturbação do equilíbrio natural. Algumas destas soluções passam por uma gestão da paisagem agrícola, a destruição mecânica dos túneis subterrâneos em que os roedores se deslocam e uma maior inspeção em zonas com histórico de uso de venenos (Laakso *et al.*, 2010).

Uma das importantes ações a serem tomadas para diminuir o risco de exposição primária aos RAC é através de “estações” de iscos apropriadas, colocando armadilhas adequadas ao tipo de animal que se quer combater. Ao nível de intoxicações secundárias torna-se mais complicado, tendo em conta todos os fatores que podem entrar na equação. Como tal, é importante o reconhecimento das espécies não-alvo presentes na área a tratar, os seus tamanhos, hábitos alimentares e a sua suscetibilidade aos anticoagulantes (Fournier-Chambrillon *et al.*, 2004).

#### **4.5 Diagnóstico etiológico de intoxicações:**

Os resultados das análises químicas e histopatológicas juntamente com os dados da necrópsia ajudam a chegar um diagnóstico mais definitivo, no entanto é imperativo realizar-se uma rotina de recolha de amostras de órgãos do animal ou do ambiente que o cerca, na hora do óbito. As informações apresentadas de seguida, com base na revisão bibliográfica de Oliveira, Oliveira e Colaço (2002), demonstram como se deve atuar no armazenamento do material, contribuindo para uma maior probabilidade de êxito no diagnóstico toxicológico. Aquando da recolha de amostras é preciso ter em atenção que nem todas as amostras são indicadas para a pesquisa de tóxicos e é necessário ter em conta em caso de recolha de amostras de animais mortos, o estado da sua conservação.

A quantidade enviada deverá ser sempre maior que 100 grama, a mínima necessária para a realização dos testes, assim como, para eventuais exames adicionais. A fim de evitar interferências nos resultados das análises, as amostras de sangue não devem possuir anticoagulante e nenhuma das amostras deverá ser lavada com água ou ser-lhe adicionado conservantes ou anti-sépticos.

A dimensão do recipiente deve ser adequada à amostra e o bocal suficientemente largo para que o material seja retirado com facilidade. Este não deve ser totalmente cheio, porque a fermentação pode ocorrer com frequência, em particular quando se envia conteúdo



estomacal, e o seu encerramento é necessário ser reforçado com fita adesiva ou parafilme. Cada amostra deve ser colocada num recipiente individual de vidro ou de plástico resistente, de preferência plástico alimentar e de forma a não fazer contaminação exterior, não deve de todo entrar em contacto com nenhum tipo de material absorvente, como seja o algodão, lã, gaze ou outro tipo de tecido.

A identificação de cada amostra deve ser feita no exterior da sua embalagem com letra legível e tinta indelével e com as seguintes informações: natureza do órgão ou tecido, número de identificação do animal, espécie, data de colheita e quantidade.

O envio de amostras para realizar análises toxicológicas deve-se fazer em contentores com gelo seco e hermeticamente fechados para manterem a temperatura de congelação, em que foram armazenadas (-4 °C). Este passo é de extrema importância pois condicionará a qualidade da resposta obtida pela análise laboratorial efetuada.

As técnicas analíticas mais utilizadas na deteção de rodenticidas são a Cromatografia de Camada Fina (CCF), a Cromatografia Líquida de Alta Resolução (CLAR) e a Cromatografia Gasosa (CG), associadas à Espectrofotometria UV ou de Massa. O objetivo principal deste tipo de análises é detetar/identificar/quantificar substâncias em amostras biológicas: maioritariamente fígado, sangue, conteúdo gástrico, e/ou outras relacionadas, nomeadamente os iscos, de modo a ajudar ao diagnóstico ou tratamento/prognóstico - no caso do animal ainda se encontrar vivo.

Tanto a CCF, como a CLAR e a CG, baseiam-se no princípio da adsorção e migração diferencial dos vários componentes de uma amostra, consoante o seu comportamento químico, através das interações com um solvente ou mistura de solventes (fase móvel) e um adsorvente (fase estacionária) (Rengel & Friedrich, 1993).

A CCF, do anglo-saxónico Thin Layer Chromatography, é uma técnica vulgarmente utilizada, devido às suas inúmeras vantagens, nomeadamente, a facilidade e rapidez de execução da técnica, capacidade de análise a vários compostos, baixo custo e a possibilidade de testar várias amostras ao mesmo tempo, contribuindo assim para uma maior prontidão na obtenção dos resultados (Touchstone, 1992).

Com o desenvolvimento de novas técnicas laboratoriais, a utilização da CCF na deteção de tóxicos tem vindo a cair em desuso, principalmente devido à sua baixa sensibilidade, sendo substituída por técnicas como a CLAR (Sherma *et al.*, 2003). A CLAR normalmente associada à espectrofotometria de massa permite obter limites de deteção mais baixos. Vários são os estudos (Rengel & Friedrich, 1993; Iqbal, Asghar, Ahmed, Khan & Jamil, 2014) que mostram a deteção de amostras positivas na técnica da CLAR que no entanto não tinham sido detetadas na CCF.

Outra técnica muito utilizada é a CG, em tudo semelhante à CLAR mas onde a pesquisa de compostos que possam ser vaporizados podem ser analisados com precisão e alta sensibilidade e sem alteração da sua composição (Pereira, 2011).

## **5. Trabalho prático:**

### **5.1 Objetivos:**

Apesar da sua presença abundante, a caracterização da população de fuinhas em Portugal ainda se encontra pouco documentada. Há referência apenas dos trabalhos de Pinto e Santos (1997), Santos *et al.* (2005), Santos e Santos-Reis (2009), realizados na região de Grândola, onde é feita uma descrição mais aprofundada da ecologia da espécie, através da monitorização dos animais em estado selvagem.

Por outro lado estima-se que a dimensão documentada do uso de venenos em Portugal esteja muito aquém da realidade. Dos dados existentes, são os carnívoros as vítimas mais frequentes de intoxicações por pesticidas, nomeadamente rodenticidas, havendo grande interesse em perceber o real impacto destes compostos na fauna selvagem (PAP, 2004).

A fuinha, como consumidora de roedores, e devido à sua natureza camaleónica no que respeita à ocupação de habitats, torna-se uma espécie-alvo, tanto de intoxicações primárias como secundárias, crónicas ou subletais.

Tendo em atenção estes pressupostos, o delineamento deste trabalho teve como objetivos específicos:

- a) Obter dados ecológicos e morfométricos sobre a fuinha (*Martes foina*), através dos espécimes que ingressaram no CERVAS, contribuindo para a caracterização demográfica da espécie a nível nacional;
- b) Fazer a análise toxicológica para deteção de resíduos de rodenticidas dicumarínicos em amostras colhidas em ato de necrópsia, existentes no banco de amostras do CERVAS e colhidas em necrópsias efectuadas durante o período de estágio.

### **5.2 Material e Métodos:**

#### **5.2.1. População de *Martes foina* na área de intervenção do CERVAS**

- a) Levantamento de dados de Centros de Recuperação Nacionais:

Para se estimar a importância dos dados da região de intervenção do CERVAS foi feito inicialmente um levantamento dos dados, respeitantes a esta espécie, existentes em outros Centros de Recuperação nacionais, referente a:

- Número de ingressos de indivíduos desta espécie;
- Causas de ingresso nos Centros.

- b) Caracterização dos indivíduos que ingressaram no CERVAS entre 2009 e 2015

A caracterização dos espécimes efectuou-se utilizando os dados históricos existentes no CERVAS, à altura do início do estágio, e os recolhidos durante o estágio que terminou em Junho de 2015, pelo que neste ano apenas foram contabilizados os primeiros 6 meses (Anexo 1). Dos indivíduos desta espécie que deram entrada no CERVAS, no período em análise, foram compiladas informações relativas a:

- Ingressos por ano;
- Ingressos por estação do ano;
- Ingressos por concelho de recolha/origem do espécime;
- Causa de ingresso;
- Estado (vivo/cadáver) à admissão;
  - Se vivo à admissão, qual o estado final:
    - recuperação e libertação;
    - recuperação e cativeiro;
    - morte durante a recuperação;
- Género;
- Idade estimada;
- Conteúdo estomacal: análise descritiva da alimentação da fuinha através da exploração dos estômagos e do levantamento do conteúdo gástrico ainda não digerido e passível de ser identificado.

#### c) Análise estatística

- Descrição dos dados morfométricos e de necrópsia (segundo os protocolos seguido no CERVAS, Anexo 2 e 3): Os dados morfométricos foram tabelados de forma a analisar a média e os limites superiores e inferiores (valores máximos e mínimos) obtidos em cada um dos 11 parâmetros avaliados (peso; comprimento e largura da cabeça e orelha; comprimento do corpo, corpo com cauda, cauda, membro anterior, membro anterior e da altura ao garrote). Posteriormente os valores recolhidos foram distribuídos consoante a categoria: sexo (masculino e feminino) e faixa etária: juvenis (idade inferior ou igual a 2 anos) e adultos (idade superior a 2 anos).
- Análise estatística inferencial, relativa a associações entre parâmetros compilados julgados de interesse, sempre que o número de indivíduos o permitiu. Nomeadamente: a relação entre a causa mais frequente de ingresso e o género, dado as fêmeas estarem mais predispostas à morte por atropelamento (Santos & Santos-Reis, 2009); e a relação entre a causa mais frequente de ingresso e a idade, sendo que é nos animais mais jovens que se verifica um maior número de mortes por causas antropogénicas (Santos & Santos-Reis, 2009). Para esse fim foram utilizadas tabelas de contingência e o teste de Qui Quadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson, com intervalo de confiança de 95%, através do SPSS *statistics* versão 21® e Microsoft Excel 2007®).

### 5.2.2. Análise Toxicológica

5.2.2.1. Levantamento e caracterização das amostras existentes no banco de amostras do CERVAS (Anexo 4), relativamente aos parâmetros:

a) Identificação e descrição da amostra (relação com os dados recolhidos no ponto 5.2.1.b));

b) Tipo de amostra (órgãos/sangue);

c) Quantidade amostra;

d) Estado de conservação da amostra (embalagem, acondicionamento, conservação em frio sem ciclos de congelação/descongelação evidentes);

5.2.2.2. Selecção de amostras viáveis para análise. Esta selecção teve como critérios de inclusão:

a) Existência de correspondência entre a amostra e o animal (conforme ponto 5.1.1.

b);

b) Existência de fígado, entre as amostras dos vários órgãos de cada espécime;

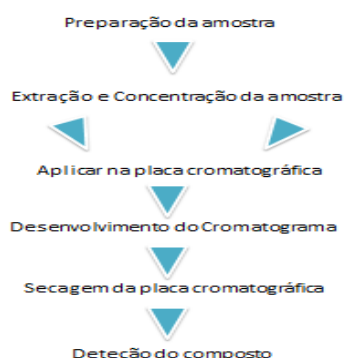
c) Condição da amostra, sem conspurcação ou estado de deterioração;

d) Quantidade de amostra de fígado: mínima de 10 grama (Anexo 4).

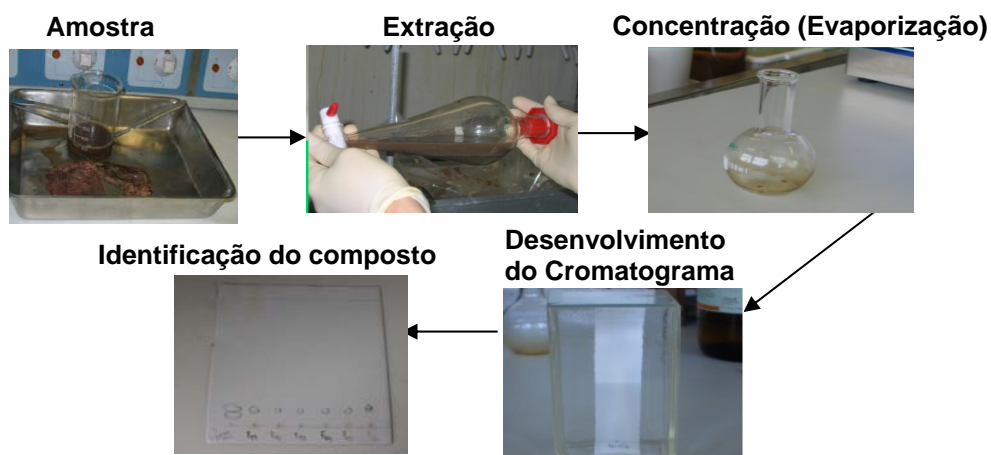
A análise Toxicológica foi realizada no Laboratório de Farmacologia e Toxicologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, pela técnica de Cromatografia de Camada Fina (CCF) (Figuras 12 e 13). Seguiu-se o protocolo em uso (Anexo 5), utilizando como padrões os dicumarínicos mais frequentemente detetados na casuística deste Laboratório: Difenacume, Bromadiolona, Brodifacume e Coumatetril. A técnica tem um Limite de Detecção (LOD) de 2µg.

Apesar de menos utilizado, devido à pouca probabilidade de se encontrar os RAC no TGI de animais intoxicados por este tipo de compostos, optou-se ainda assim por realizar a análise de 5 amostras de conteúdo estomacal. Pretendia-se assim despistar a presença de rodenticidas no TGI destes animais, na eventualidade do óbito ter ocorrido antes da completa digestão e por isso ainda não ter atingido no fígado uma quantidade detectável pela técnica utilizada. Nestas amostras o conteúdo gástrico foi removido do estômago e a mucosa foi lavada com água destilada, usando-se estes dois componentes (conteúdo e líquido de lavagem) como amostra, sendo depois submetidas ao mesmo protocolo usado para as amostras de fígado e testando-se também a presença dos mesmos quatro rodenticidas.

**Figura 12** Esquema simplificado da técnica de CCF (Fonte: Adaptado de Touchstone, 1992)



**Figura 13** Técnica de CCF (Fonte: Original; Carrapiço e Belas).



### 5.3 Resultados:

#### 5.3.1. Amostra populacional de *Martes foina*

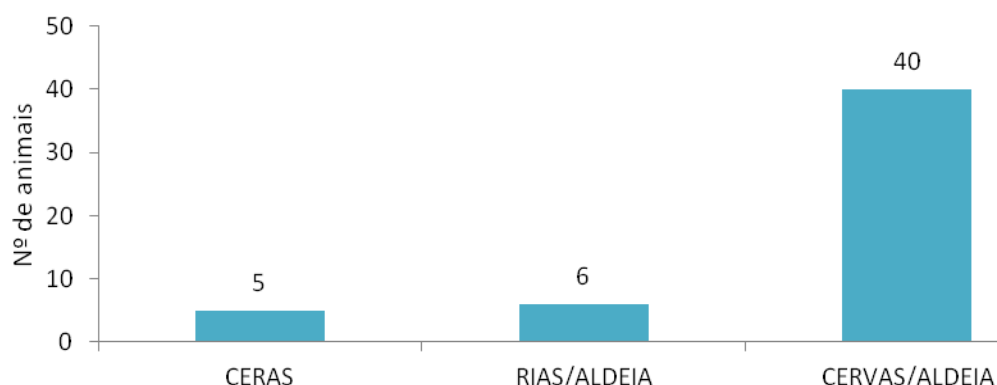
##### 5.3.1.1. Levantamento de dados de Centros de Recuperação Nacionais.

Após contacto com os Centros de Recuperação nacionais verificou-se que o Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens (RIAS – Associação ALDEIA, com área de intervenção na zona Sul de Portugal, com especial incidência no Algarve) e o Centro de Estudos e Recuperação de Animais Selvagens (CERAS – com área de intervenção na zona centro, com sede em Castelo Branco) eram os que tinham casuística expressiva, tendo por isso sido utilizados os dados desses Centros apenas para uma comparação numérica com os dados do CERVAS, que abrange a recuperação e vigilância de animais silvestres da região centro-norte do país, com sede em Gouveia. Os dados referentes ao CERAS e ao RIAS não serão estudados mais aprofundadamente, pois não são considerados significativos comparativamente aos do CERVAS, além de que este trabalho foca-se na descrição da população de fuinhas na região centro-norte de Portugal.

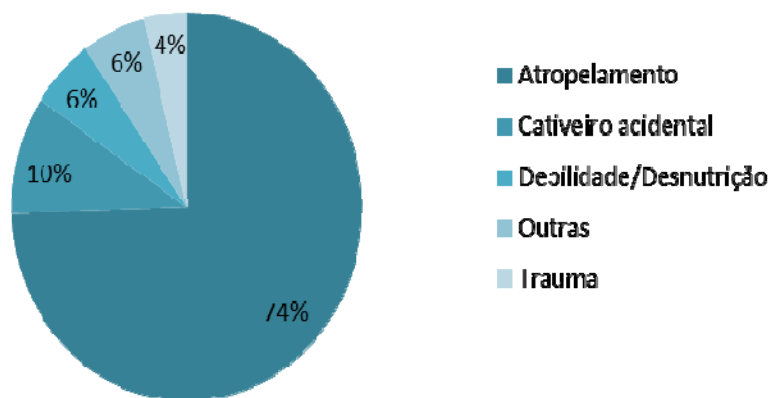
Os dados referem-se ao período de tempo entre 2009 e Junho de 2015 e pela observação do gráfico 2 é possível concluir que o Centro em foco nesta dissertação recebeu no período estudado, 5 a 6 vezes mais fuinhas relativamente aos outros Centros.

Fez-se também a análise dos principais motivos de ingresso desta espécie nos 3 Centros citados (Gráfico 3), onde notoriamente a maioria das fuinhas deu entrada devido ao choque com viaturas, enquanto todas as outras causas (cativeiro acidental, debilidade, trauma e outras) têm percentagens inferiores e muito similares.

**Gráfico 2** Ingressos de *Martes foina* nos Centros de Recuperação CERAS, RIAS e CERVAS, de 2009 a Junho de 2015.



**Gráfico 3** Causas de ingresso nos Centros de Recuperação, de 2009 a Junho de 2015 (total dos dados do CERAS, RIAS e CERVAS).

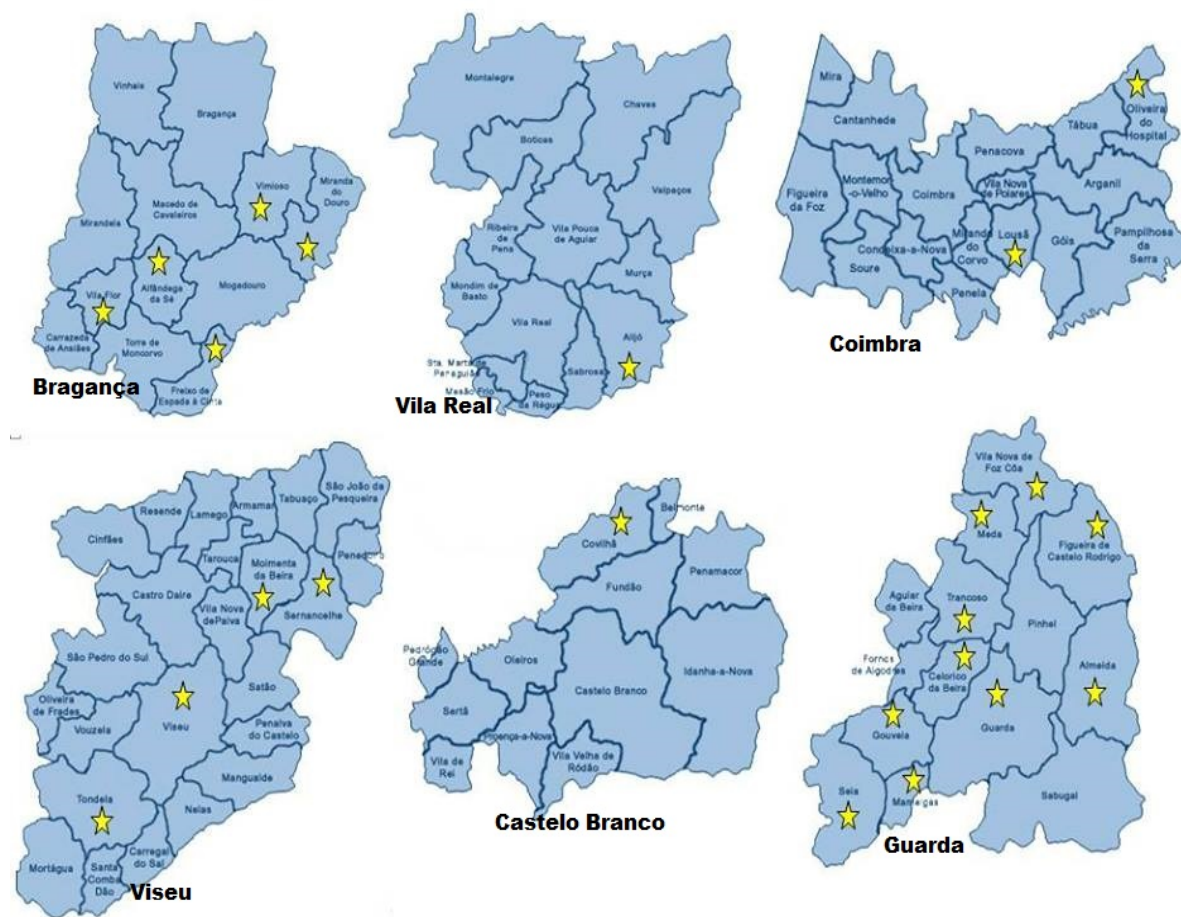


#### 5.3.1.2.- Caracterização dos indivíduos que ingressaram no CERVAS entre 2009 e Junho de 2015, relativamente a:

##### a. Distritos de recolha e origem dos espécimes da amostra em estudo (n=40):

Os animais foram provenientes de seis distritos: Bragança, Vila Real, Coimbra, Viseu, Castelo Branco e Guarda. Sendo que mais fuinhas foram encontradas no distrito da Guarda, tendo o distrito de Vila Real e Castelo Branco, apenas uma entrada cada um. A figura 14 mostra a distribuição por freguesias.

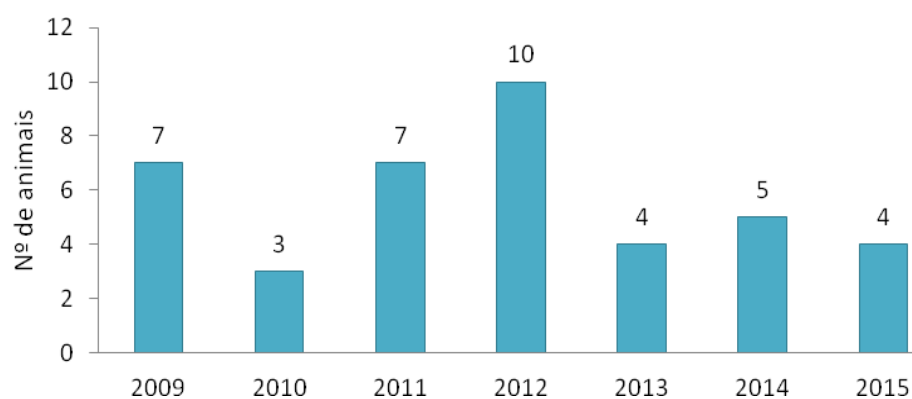
**Figura 14** Mapa com a distribuição por freguesias das fuinhas ingressadas no CERVAS.



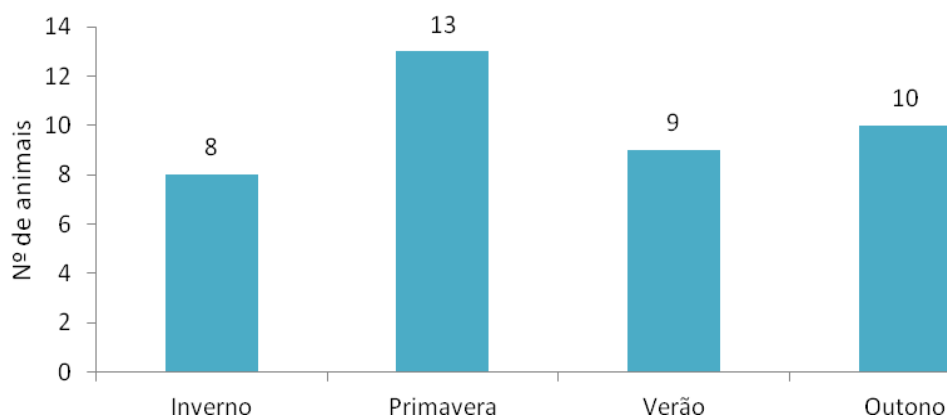
**b. Ano e estação do ano dos espécimes da amostra em estudo (n=40):**

O ano de 2012 foi o que verificou maior número de ingressos, num total de 10 fuinhas (Gráfico 4). Também se avaliou em que estação do ano haveria maior número de ingressos, sendo que na Primavera este valor é relativamente mais elevado do que em qualquer outra estação do ano (Gráfico 5).

**Gráfico 4** Distribuição anual dos animais que ingressaram no centro.



**Gráfico 5** Distribuição por estação de ano, dos animais que ingressaram no CERVAS.

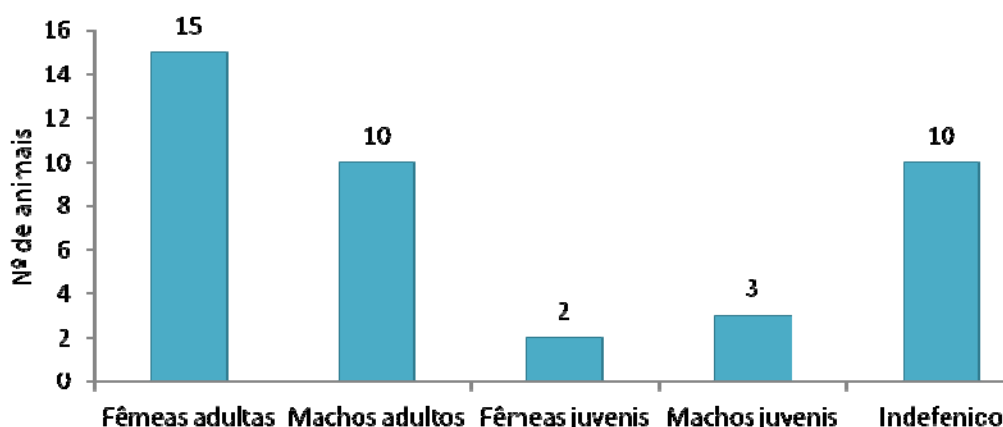


**c. Género e idade estimada dos espécimes da amostra em estudo (n=40):**

Relativamente ao género, verificou-se um ingresso de um maior número de fêmeas em comparação com o de machos e é já quando atingem a fase adulta que mais fuinhas são recebidas neste Centro (Gráfico 6). Se considerarmos apenas a categoria “Juvenil”, os machos aparecem em maior número, no entanto não se pode dizer que será uma diferença significativa tendo em conta a pouca quantidade de amostra.

À categoria “Indefenido”, com um total de 10 animais, pertencem todos aos quais não possível identificar o género (através da identificação do aparelho reprodutor interno ou externo), a idade (através da dentição) ou ambos.

**Gráfico 6** Distribuição por sexo/classe etária, dos animais que ingressaram no CERVAS.



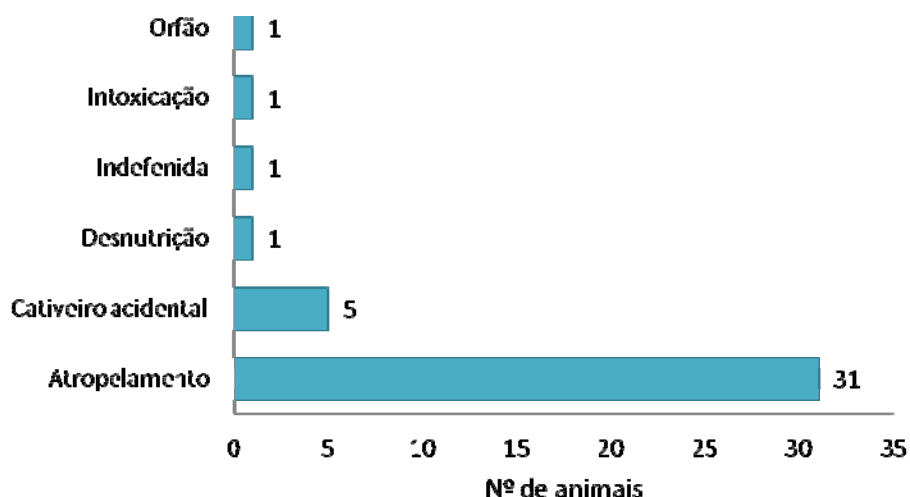
**d. Causa de ingresso dos espécimes da amostra em estudo (n=40):**

Visto que se está a avaliar a população de fuinhas que entrou num centro de recuperação de fauna selvagem, regra geral os animais não se encontram num estado hígido. Por isso é



de grande importância saber as causas da morbilidade e eventualmente da mortalidade. Os resultados obtidos mostram que as duas maiores causas de ingresso são o atropelamento e o cativoiro accidental (como por exemplo, no caso de zonas mais urbanas, onde já foram encontradas fuinhas em caixotes de lixo ou sótãos) (Gráfico 7).

**Gráfico 7** Distribuição das causas de ingresso das fuinhas no CERVAS.



**e. Estado à admissão no Centro e resultado diagnóstico final dos espécimes da amostra em estudo (n=40):**

Dos 31 animais que deram entrada por atropelamento apenas 4 se encontravam vivos e só 1 acabou por sobreviver e ser libertado. Nos 5 casos de cativoiro accidental apenas um morreu e tanto no caso da fuinha orfã, como da que entrou por desnutrição, o destino final foi a devolução à natureza, contrariamente ao caso de suspeita de intoxicação que acabou por morrer passado 2 dias de internamento (Anexo 1).

Se tivermos em conta os animais que entraram vivos, dos quais apenas se contabilizam 12, pode-se afirmar que a taxa de sucesso de recuperação de fuinhas, neste centro, é de aproximadamente 58%, no entanto é um valor com baixa sensibilidade, dado os poucos casos em que sucede este animal chegar vivo ao CERVAS.

**f. Morfometrias dos espécimes da amostra em estudo (n=32):**

Como já indicado, faz parte do protocolo de necrópsia recolher as morfometrias dos animais mortos, caso o cadáver esteja em condições para tal (Anexo 2). Tendo em consideração a existência das condições necessárias para o levantamento dos dados biométricos do total da amostragem em estudo (n=40), conseguiram-se medidas de 32 animais.

A partir do tratamento destes dados, obteve-se os resultados presentes na Tabela 4 e 5.

Há um claro dimorfismo sexual, onde o macho é maior, com exceção nos parâmetros relativos ao comprimento do corpo e comprimento da cabeça, no qual a fêmea apresenta valores, em média, mais elevados. No que concerne à avaliação das morfometrias por idade, os valores são, em geral, muito semelhantes, nos dois grupos avaliados (juvenis e adultos).

**Tabela 4** Características morfométricas das fuinhas fêmeas e machos do CERVAS.

	Fêmeas			Machos		
	Média	Valor máximo e mínimo	Nº de animais	Média	Limite inferior e superior	Nº de animais
Cabeça (comprimento) (cm)	9,1	8-13,5	12	8,9	6,9-10,3	13
Cabeça (largura) (cm)	4,3	4,5-5,2	9	4,3	2,6-5,4	8
Orelha (comprimento) (cm)	3,4	3-4	11	3,8	2,2-4,1	11
Orelha (largura) (cm)	2,4	1,7-3,2	11	2,4	1,1-3,2	11
Corpo (cm)	44,4	38-52,2	16	42,6	23-47	16
Corpo + Cauda (cm)	68	61-76,5	16	70,8	66-79,5	16
Cauda (cm)	24,3	8,8-35,4	16	27,3	19,9-4,55	16
Altura ao garrote (cm)	17,8	11,7-20,6	16	18,6	17,5-21,6	16
Membro anterior (cm)	11,3	11-12	6	12,4	11,4-13,5	4
Membro posterior (cm)	8,2	6,8-9,7	12	8,8	7,9-10	11
Peso (g)	1313,6	899-2800	16	1451,3	1051-1853	7

**Tabela 5** Características morfométricas das fuinhas juvenis e adultos do CERVAS.

	Juvenis			Adultos		
	Média	Valor máximo e mínimo	Nº de animais	Média	Limite inferior e superior	Nº de animais
Cabeça (comprimento) (cm)	8,2	7,6-9	n=3	9,1	6,9-13,5	n=21
Cabeça (largura) (cm)	4,6	4,4-4,9	n=3	4,5	2,5-5,4	n=13
Orelha (comprimento) (cm)	3,2	3-3,5	n=3	3,3	2,2-4,1	n=19
Orelha (largura) (cm)	2,1	1,7-2,5	n=3	2,5	1-3,2	n=18
Corpo (comprimento) (cm)	43,6	38-50	n=5	43,6	23-52,2	n=26
Corpo + Cauda (cm)	69,3	66-76,5	n=5	69,1	61-72,9	n=26
Cauda (cm)	25,4	20-35,4	n=5	25,9	8,8-45,5	n=26
Altura ao garrote (cm)	19	17,5-21	n=5	18,8	11,7-21,6	n=26
Membro anterior (cm)	11,5	11-12,5	n=3	11,8	11-13,5	n=7
Membro posterior (cm)	8,5	7,9-9,5	n=4	8	6,8-10	n=18
Peso (g)	1213,1	899-1413	n=4	1393	972-1853	n=18

**g. Achados patológicos nas necrópsias efetuadas aos espécimes da amostra em estudo (n=30):**

Depois da análise externa do cadáver, segue-se a avaliação anatomo-visceral, tendo sido possível recolher informações acerca de 30 indivíduos, do total dos 40 presentes na base de dados (Figura 15). Optou-se pela análise dos diferentes sistemas, tendo sido divididos nas seguintes categorias: sistema cardiovascular (coração e vasos sanguíneos), sistema respiratório (pulmões), sistema digestivo (trato gastrointestinal e fígado), sistema urinário (rins) e sistema esquelético.

A nível do sistema cardiovascular, os sinais mais frequentes traduziram-se em alterações do pericárdio (2/9), congestão cardíaca (4/9) e quadros anémicos (2/9).

No sistema respiratório, as hemorragias pulmonares foram o achado mais vezes observado (5/8).

Por sua vez a nível do trato gastrointestinal, verificaram-se mais ruturas dos órgãos implicados (3/5), assim como decomposição, com sinais de timpanismo (2/5) e necrose do fígado (4/10) (Figura 16).

Nos rins os sinais mais usuais foram mucosas pálidas (5/7) e petéquias (2/7).

No que concerne ao sistema esquelético verificaram-se na sua maioria fraturas do crânio (8/11), seguido do fémur (4/11), tíbia e fíbula (3/11).

**Figura 15** Vista lateral de cadáver de fuinha (Fonte: cedida por Dr. Ricardo Brandão)



**Figura 16** Pormenor da cavidade abdominal de fuinha (Fonte: cedida por Dr. Ricardo Brandão)

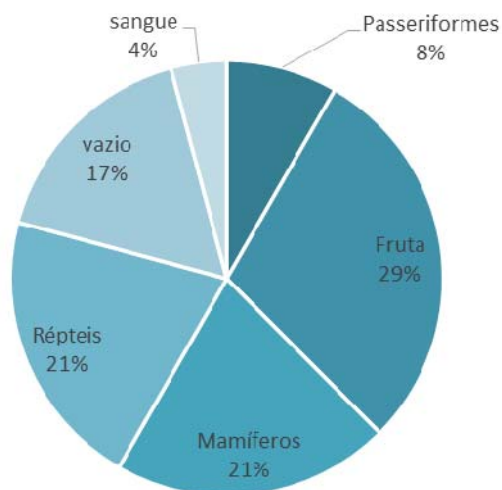


**h. Características do conteúdo estomacal dos espécimes da amostra em estudo (n=17):**

Dado a existência do banco de amostras de conteúdos gástricos no CERVAS, juntamente com as amostras recolhidas durante o período de estágio, foi possível avaliar 17 estômagos. No conteúdo gástrico do animal com suspeita de intoxicação, encontrou-se pêlo e pequenos fragmentos de ossos. Cinco das amostras continham indicadores da presença de mamíferos, através de pêlos e estruturas ósseas. Também a presença de répteis se verificou em cinco das amostras, tendo sido possível numa delas chegar à espécie, pois o conteúdo encontrava-se pouco deteriorado, concluindo-se que se teria alimentado de uma cobra-de-escada (*Rhinechis scalaris*).

Outros achados foram matéria vegetal como cascas de frutas e caroços, bem como passeriformes (Gráfico 8 e Figura 17).

**Gráfico 8** Distribuição percentual dos conteúdos estomacais.



**Figura 17** Imagem microscópica de um achado gástrico (matéria vegetal) (Fonte: Original).



**i. Análise estatística inferencial relativamente à causa de ingresso e sua relação com o género ou a idade dos espécimes da amostra em estudo (n=40):**

Com esta análise pretendia-se saber se o fato de os animais terem entrado por atropelamento estaria dependente do fato de serem machos ou fêmeas. Verificou-se que com os dados presentes, não foi possível apurar a presença de uma dependência entre os critérios analisados ( $p=0.092$ ) (Anexo 6, Tabela 9).

Usando os mesmos testes de relação estatística entre as variáveis Idade e Causa de ingresso por atropelamento, também não se verificou uma relação estatisticamente significativa ( $p=0.059$ ) (Anexo 6, Tabela 10).

**5.3.2. Análise toxicológica:**

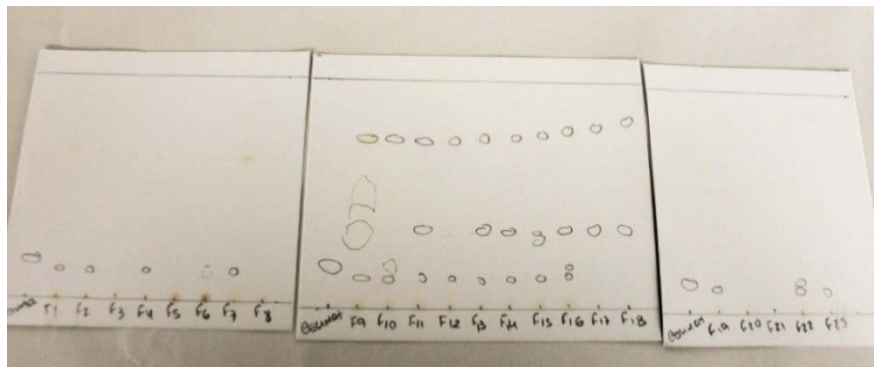
Dos 40 animais presentes na amostra em análise, apenas 21 reuniam os critérios de seleção para submissão a análise toxicológica, citados no ponto 5.2.2. (Anexo 4). A exclusão das restantes amostras teve por base diversos fatores, nomeadamente: a falta de informação na história clínica do animal; o peso hepático inferior ao mínimo estabelecido para a obtenção de resultados satisfatórios e a conspurcação e necrose do fígado.

Na análise toxicológica feita pela técnica da CCF, obtiveram-se resultados abaixo do limite de deteção para os quatro rodenticidas pesquisados (Figura 18). De todas as amostras analisadas apenas uma tinha como suspeita morte por intoxicação, não se verificando concordância com o resultado da análise realizada.

Entre os vários cromatogramas obtidos ( $n=84$ ), apenas em dois deles, na posterior observação à luz UV, houve dúvidas quanto à precisão do resultado, tendo-se por isso elaborado dois testes complementares para despiste. Nestes testes foram usados reagentes de visualização, isto é, numa das amostras aplicou-se o reagente  $H_2SO_4$  e na outra o reagente KOH. Em nenhuma se verificou nenhuma reação de mudança de cor, concluindo-se que no que diz respeito a estes compostos, as amostras eram negativas (Figura 19).

Para além das 21 amostras hepáticas testadas, também se avaliaram 5 dos conteúdos gástricos pertencentes a esses animais. O grupo de xenobióticos padrões usados foram os mesmos que nas amostras de fígado. Os resultados das CCF revelaram-se abaixo do limite de deteção.

**Figura 18** Resultado das placas do cromatograma relativamente ao padrão Coumatetraril (Fonte: Original).



**Figura 19** Placas de cromatografia (Fonte: Original)



Legenda: 1 – reagente de KOH com as amostras e o padrão Difenanicume. 2 – reagente  $H_2SO_4$  com as amostras e o padrão Brodifacume.

## 5.4 Discussão:

### 5.4.1. Análise da população de *Martes foina* na área de intervenção do CERVAS:

Considerando a pesquisa bibliográfica efetuada, rapidamente se conclui que a informação acerca deste mustelídeo em território português é escassa e são poucos os autores que se dedicam ao seu estudo em Portugal, sendo que o trabalho mais recente data de 2012 (Santos & Matos, 2012).

Esta dissertação permitiu ter uma maior e mais detalhada abordagem acerca da população de fuinhas em Portugal, mais especificamente na área de atuação do CERVAS, centro-norte de Portugal, Centro de recuperação que disponibilizou os dados analisados.

Como verificado nos resultados obtidos, o CERVAS, é o centro nacional com maior número de ingressos deste animal a nível de todo o território nacional, reunindo assim as melhores condições para o estudo retrospectivo deste mamífero sinantrópico, tão abundante mas desconhecido por tantos.

Na região estudada o distrito com maior número de fuinhas é a Guarda (distrito onde se localiza o CERVAS), podendo indicar uma maior presença da fuinha nesta zona de ação

do CERVAS ou uma maior facilidade/disponibilidade na entrega ou alerta de animais selvagens, provavelmente devido a uma maior consciencialização resultante do trabalho de sensibilização realizado pelo Centro. Como já referido anteriormente, devido ao comportamento sinantrópico deste animal, a sua presença é mais facilmente relatada em ambientes mais humanizados. Tal não se verificou no presente estudo, onde os maiores concelhos de cada distrito registam menor número ou mesmo nenhum caso de ingresso de fuinhas no Centro (Figura 14).

Verificou-se que a Primavera é a época do ano em que mais fuinhas ingressaram no CERVAS (Gráfico 5), o que pode estar relacionado com a época de partos (Março a Abril), resultando numa maior vulnerabilidade dos progenitores aquando da procura de alimento. Da análise descritiva a parâmetros como sexo e idade, conclui-se que dos 13 animais que ingressaram na Primavera, maioritariamente eram fêmeas (7/13) e apenas 2 juvenis. Tendo em conta que o maior número de animais que ingressaram na altura da Primavera eram fêmeas adultas, isto corrobora os estudos de Santos e Santos-Reis (2009), onde afirmam que nesta época estas podem ser mais susceptíveis a: atropelamento, devido a um maior incentivo e destreza para passar barreiras em procura de alimento; cativeiro accidental, pois aproximam-se da população, tanto para construção de ninho como para alimentação e a intoxicação secundária, pois as presas intoxicadas são mais fáceis de apanhar, minimizando assim o tempo na caçada, longe da cria.

Apesar das variadas causas que levam um animal selvagem a ingressar num centro, no caso da fuinha, verifica-se uma tendência generalizada, a nível dos 3 Centros de recuperação (CERVAS, RIAS e CERAS) para o atropelamento (Gráficos 3 e 7), sendo que no CERVAS, 70% dos animais já deram entrada mortos (Anexo 1).

Tendo em conta que o atropelamento foi a causa de ingresso mais frequente, é de esperar que os principais sinais encontrados na necrópsia se relacionem com o impacto sofrido, ou seja, hemorragias generalizadas, congestões e fraturas ósseas, tal como verificado neste trabalho. Por vezes o cadáver, ou parte dele, já se encontrava em estado de decomposição avançada, tornando-se impeditivo tirar qualquer tipo de conclusão, o que acaba por originar uma lacuna na história clínica do animal. Esta situação pode dever-se a uma demora na notificação e/ou recolha do cadáver, assim como na entrega, por parte das autoridades competentes, aos locais legalmente qualificados para o efeito, como os Centros de recuperação de animais selvagens, por parte das autoridades competentes. Este fato associado a uma falta de anamnese, visto tratarem-se de animais em estado selvagem que não têm um acompanhamento regular, e por vezes também à falta de recursos, não nos permite um apuramento rigoroso acerca da sua causa de morte.

Mesmo já existindo um protocolo de necrópsia, que é e deverá ser sempre efetuado com o máximo rigor possível, penso que seria benéfico para posteriores análises de resultados a implementação de um código numérico ou nominal. Ao codificarem-se as alterações

possíveis de encontrar, assim como outras informações relevantes, obter-se-ia uma maior eficácia em futuras conclusões, pois a ambiguidade das observações anotadas pelas diferentes pessoas que executam as necrópsias seria assim reduzida. Este código torna-se útil não apenas dentro do mesmo centro, mas também a nível nacional, com a possibilidade de uniformização da codificação dos vários centros e, desse modo, facilitar a comparação e análise dos resultados, reduzindo a influência da subjetividade.

A análise dos dados morfométricos das fuinhas revela dimorfismo sexual, sendo os machos mais pesados e apresentando valores consistentemente mais elevados que as fêmeas (Tabela 5), estando estas informações em concordância com o estudo citado no capítulo correspondente (ponto 4.4) (Santos & Matos, 2012). A espécie não apresenta variações de morfologia, quando comparados os resultados obtidos neste trabalho com os do sul do país (Santos-Reis *et al.*, 2005) ou mesmo com os de estudos internacionais (Marinis *et al.*, 1990; Loy *et al.*, 2004), encontrando-se as medidas corporais e o peso apresentados dentro dos mesmos intervalos (Tabela 4 e 5).

As dimensões a nível craniano, frequentemente maiores nos machos, são diretamente proporcionais à aptidão para a caça. Neste trabalho, os valores médios do comprimento e largura da cabeça são muito semelhantes entre os dois sexos (Tabela 4), contrariamente ao que é apresentado em estudos anteriores (Loy *et al.*, 2004). Apesar do número da amostra não ser suficientemente abrangente para podermos tirar conclusões assertivas, este fato sugere que poderá haver uma diferenciação nos animais analisados neste estudo. A causa deste desvio também poderá resultar de um enviesamento dos dados nesse sentido, pois como a medição desta região anatómica é feita apenas em animais mortos, muitas vezes fica comprometida, como por exemplo em casos de fraturas ou esmagamentos, resultando em dimensões adulteradas.

No que diz respeito à comparação entre as morfometrias de juvenis e adultos, seria de esperar o aumento dos valores medidos simultaneamente com o aumento da idade, o que não se verificou. Todos os parâmetros avaliados entre os dois grupos etários apresentam resultados idênticos, podendo dever-se à pequena quantidade de amostras de fuinhas juvenis (n=5) e também do grau de variabilidade entre diferentes observadores, visto que nestes casos, a atribuição da idade não se trata de um cálculo objetivo. É também importante referir que no caso dos animais adultos, poderão ter morrido ainda em fase de crescimento.

As biometrias apresentadas poderiam ter valores com uma maior sensibilidade se este tipo de estudo fosse feito preferencialmente com os animais *in loco*, através de métodos de radiovigilância e captura, sendo, no entanto, necessário uma maior disponibilidade de recursos, humanos e financeiros.

A análise estatística abrangeu os parâmetros de: causa de ingresso; sexo e idade, com o intuito de obter respostas quanto às hipóteses formuladas com base nos comportamentos



desta espécie. Uma das hipóteses iniciais seria que as fêmeas estariam mais relacionadas com o atropelamento comparativamente aos machos. A Primavera foi a altura do ano em que mais animais ingressaram, sendo que é nesta altura que as progenitoras têm de se alimentar assim como às suas crias e mais tarde ensiná-las a caçar, acabando por passar mais tempo em atividade e consequentemente mais susceptíveis ao atropelamento. Este pressuposto de dependência não se verificou. Também seria interessante verificar se o fato dos animais jovens terem de percorrer maiores distâncias para encontrar territórios não ocupados, juntamente com a sua pouca experiência, contribuiriam para um maior número de atropelamentos. Com os dados obtidos e os testes realizados não foi possível apurar quaisquer conclusões em relação a esta hipótese, pois as variáveis não apresentaram relação entre elas. Não foi realizado mais nenhum estudo estatístico relativamente a outros parâmetros dado a casuística existente não ser suficiente para reproduzir resultados fiáveis. É de salientar a importância de em possíveis futuros trabalhos debruçar especial atenção, não só à quantificação, mas também à qualificação dos dados.

Este estudo corrobora outros trabalhos em que a fuinha é definida como uma espécie generalista, como é mostrado no Gráfico 8, alimentando-se de fruta, mamíferos, répteis e passeriformes. Todavia Santos e Santos-Reis (2009) terem definido que as fuinhas do Norte do país se alimentariam mais de pequenos mamíferos, isso não se verifica neste estudo. Tal como as fuinhas do Sul (Santos-Reis *et al.*, 2005; Pinto & Santos, 1997), também aqui se conclui que estas se alimentam mais de frutas, fato que pode estar relacionado mais uma vez com a sazonalidade, pois no final da Primavera/início de Verão, começam a surgir os primeiros frutos e como já referido a maioria dos animais ingressaram nesta época. Com a mesma percentagem encontram-se os répteis e pequenos mamíferos, mostrando assim o carácter generalista na alimentação da fuinha consoante a disponibilidade alimentar (Gráfico 8).

Estando fora do âmbito deste trabalho, o fato de os pequenos mamíferos constituírem grande parte da dieta das fuinhas poderia ser objeto de maior estudo, visto a fuinha poder ser um hospedeiro reservatório de zoonoses passíveis de ser transmitidas por roedores (maior percentagem dos pequenos mamíferos constituintes da sua dieta). Atendendo aos resultados obtidos juntamente com os dados epidemiológicos referidos no capítulo 3.7 deste trabalho, parece-me de extrema importância a vigilância de zoonoses em Portugal, sendo que, relativamente a este animal nunca foi realizado nenhum estudo. A fuinha, tais como outros animais de comportamento sinantrópico semelhante, e que se alimentam de roedores, deveriam ser alvo principal nesta temática.

#### 5.4.2. Análise Toxicológica:

A despeito dos mustelídeos serem uma família diversificada, em Portugal, raros são os estudos com foco nesta família, inclusive na fuinha, protagonista deste trabalho. Outra das lacunas presentes a nível ecológico em Portugal, concerne ao tema dos venenos e suas consequências primárias e secundárias. Assim, resolveu-se fazer um estudo primário acerca deste tema.

Apesar de posteriormente se ter verificado que os resultados obtidos não são concordantes com a informação já existente, relativamente à alimentação da fuinha, iniciou-se este estudo toxicológico assumindo-se que os pequenos mamíferos roedores ocupavam a maior fatia da sua dieta, assim sendo, os RAC seriam o alvo mais lógico a investigar. Além de que, não só através dos mamíferos roedores está restrita a possibilidade de intoxicação secundária na fuinha por RAC, pois os passeriformes também fazem parte do seu espetro alimentício e estes são propícios à ingestão destes tóxicos na forma granulada. No trabalho de Eason *et al.* (2002) foi demonstrado que a classe dos passeriformes granívoros foi contributiva para a exposição secundária da fuinha ao Brodifacume, sendo que, nesta dissertação a frequência de ingestão destas duas classes (pequenos mamíferos e passeriformes) é de 29%.

Os RAC procurados neste trabalho foram apenas os de segunda geração, pois são aqueles que, como já referido, têm comprovadamente mais probabilidade de provocar intoxicações crónicas secundárias na fauna silvestre. Este fato deve-se essencialmente ao seu maior tempo de semivida relativamente aos RAC de 1ª geração e aos seus mecanismos de eliminação bicompartimental e recirculação entero-hepática. O fato de serem os dicumarínicos os mais frequentemente detetados na casuística do Laboratório da FMV, reforçou esta escolha.

Sendo o fígado onde os RAC são metabolizados, este é comumente utilizado para a sua pesquisa. No entanto, tendo como restrição natural a anatomia da fuinha, considerou-se que o peso da amostra para análise fosse de 10g, o menor valor estabelecido para resultados seguros, mas muito inferior ao ideal recomendado de 100g. Mesmo com este limite mínimo de peso, deu-se uma redução da casuística passível de analisar para aproximadamente metade (21/40). Estas condições seletivas acabam por tornar-se fatores precedentemente limitativos, diminuindo as possibilidades de resultados positivos.

O acondicionamento das amostras também poderá ter influenciado os resultados, devido ao deslocamento e pré descongelação no trajeto, assim como o desadequado armazenamento visceral prévio para fins de exames toxicológicos. Por falta de recursos e dada a pouca probabilidade de se efetuarem exames toxicológicos, os órgãos são armazenados todos juntos, o que pode levar a uma homogeneização das concentrações do xenobiótico entre os vários órgãos, mimetizando a redistribuição *post-mortem* que ocorre no cadáver. O enchimento dos frascos das amostras, em proporções maiores às devidas, poderá ter provocado fermentação ou alteração nos órgãos, o que também contribui para uma possível

alteração dos resultados analíticos. Em futuros estudos sugere-se a pesagem dos órgãos na altura da recolha, aumentando a eficiência do processo, visto que o processo de seleção será feito previamente, havendo também informações adicionais acerca de cada órgão do animal. Outra medida vantajosa para qualquer tipo de análises que possam ser realizadas futuramente, é o armazenamento individual de cada órgão, no sentido de evitar conspurcações ou contaminações, melhorando assim a qualidade dos resultados toxicológicos, bem como os de outros tipos de análises: microbiológicas, histológicas, químicas, etc.

Todas as amostras submetidas a análise toxicológica tiveram resultados abaixo do limite de deteção, pelo método da CCF. A técnica utilizada neste trabalho tem uma baixa sensibilidade devido ao seu elevado limite de deteção (2µg), o que aliado à conjuntura do presente estudo (pequenas quantidades de amostra e desadequadas condições de armazenamento), aumenta a probabilidade de falsos negativos. Ainda assim, continua a empregar-se devido à sua fácil e rápida execução e ao custo reduzido de cada análise, fatores bastante importantes a ter em conta aquando da execução deste trabalho prático.

A DL<sub>50</sub> de rodenticidas é conhecida em diversos animais domésticos e de laboratório (Tabela 2), mas na fuinha não existem parâmetros toxicológicos para RAC, como por exemplo a DL<sub>50</sub>, a dose mínima tóxica ou a dose mínima letal. Contudo, o principal intuito deste trabalho não era a quantificação mas sim, a qualificação dos RAC. A sua presença pode não ser suficiente para causar morte mas podem provocar outro tipo de afeções, que indiretamente levam a ela, como comprovam vários estudos já realizados não só em mamíferos como também em aves (Brakes & Smith, 2005; Pereira, 2011). Assim, as concentrações passíveis de serem detetadas seriam não letais, por conseguinte, baixas, tornando-se o teste em questão menos vantajoso nesse sentido.

Sendo a fuinha um animal adaptado tanto a ambientes rurais como urbanos, e tendo em conta que as amostras são provenientes de ambos os tipos de áreas, seria de esperar a presença destes compostos em alguma proporção, o que não aconteceu. De forma a entender melhor estas disparidades, em estudos futuros é aconselhado uma investigação mais aprofundada das zonas dos quais os animais são provenientes, explorando se nelas se verifica o uso de RAC e em que quantidade e frequência.

A técnica mais utilizada na deteção dos RAC é a CLAR, pois apresenta um limite de deteção mais baixo, sendo mais precisa na identificação. No entanto apresenta a desvantagem do seu alto custo, sendo um fator a ter em conta em estudos futuros, para a obtenção de resultados mais fidedignos, minimizando desta forma a probabilidade de falsos negativos.

## 6. Conclusão:

Com esta dissertação pretendia-se contribuir para um melhor entendimento da fauna silvestre portuguesa, nomeadamente da fuinha. Poucos são os estudos com este animal, tendo a revisão bibliográfica efetuada permitido juntar as suas características tanto ecológicas como anatómicas e epidemiológicas, num único trabalho, uma composição pioneira em Portugal. Os resultados do trabalho prático suportaram algumas bases teóricas mas também acrescentaram informações relativamente à população de *M.foina* em Portugal, nomeadamente, a que habita a zona centro-norte do nosso país.

Ficou implícito que a fuinha pode ser um hospedeiro de várias zoonoses, e são ainda poucas as pesquisas microbiológicas neste campo efetuadas aos mustelídeos, em Portugal, sendo algo a considerar em estudos futuros.

Abordou-se também a problemática dos venenos, causa de extinção de espécies. Este tema ainda não é muito abordado em Portugal, tendo sido durante anos subvalorizado, dado o seu legado histórico e cultural. No entanto, com o avançar dos tempos há um alerta crescente para deteção de rodenticidas e a medição da sua concentração, mas havendo ainda menosprezo das informações que a sua distribuição no terreno e através das cadeias alimentares nos podem dar. É imperativo a atuação consciente face aos problemas do uso de tóxicos, dadas as consequências implícitas das diferentes vias de ligação que um tóxico pode ter num ciclo biológico. Uma destas consequências serão as intoxicações secundárias sub letais, um problema notável para a fauna silvestre. Este estudo teve um universo de 21 amostras sem suspeita de morte por intoxicação onde, depois de analisadas pela técnica laboratorial de CCF, não se verificaram resultados positivos à deteção de RAC. É importante referir que, em estudos futuros, técnicas mais sensíveis que a CCF deverão ser usadas, para obtenção de resultados mais fidedignos.

É de elevada importância dar a conhecer as alternativas legais e seletivas, assim como o papel dos animais selvagens e acima de tudo incutir um maior respeito por estes.

## 7. Bibliografia:

Álvares, F. (2003). O envenenamento ilegal e a agonia da fauna selvagem portuguesa. *Tribuna da Natureza*, 14. Acedido em Março 20, 2017, disponível em <http://www.antidoto-portugal.org/porta/PT/64/DID/3/default.aspx>

ARKive. Stone marten (*Martes foina*). Acedido em Maio 9, 2016, disponível em <http://www.arkive.org/stone-marten/martes-foina/image-G135048>.

ARKive. Stone marten skull. Acedido em Maio 9, 2016, disponível em <http://www.arkive.org/stone-marten/martes-foina/image-G135482.html>.

Berny, P. (2011). Challenges of Anticoagulant Rodenticides: Resistance and Ecotoxicology, Pesticides in the Modern World - Pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment, Dr. Margarita Stoytcheva (Ed.). Acedido em Maio 21, 2016, disponível em <http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modern-world-pests-control-and-pesticides-exposure-and-toxicity-assessment/challenges-of-anticoagulant-rodenticides-resistance-and-ecotoxicology>.

Berny P, Buronfosse, T., Buronfosse F., Lamarque, F., Lorgue, G. (1997). Field evidence of secondary poisoning of foxes (*Vulpes vulpes*) and buzzards (*Buteo buteo*) by Bromadiolone, a 4-year survey. *Chemosphere*, 35 (8), 1817-1829. Acedido em Março 22, 2017, disponível em [http://www.raptorsarethesolution.org/wp-content/uploads/2016/11/Berny-1997\\_secondary-poisoning\\_Foxes\\_buzzards.pdf](http://www.raptorsarethesolution.org/wp-content/uploads/2016/11/Berny-1997_secondary-poisoning_Foxes_buzzards.pdf).

Berzina, Z., Jahundovica, I., Kirjusina, M. (2014). Trichinella species variety in Pine marten (*Martes martes*) and Stone marten (*Martes foina*) in Latvia and Lithuania (Kauņas region). Acedido em Janeiro 12, 2016, disponível em <http://lufb.ltu.lv/conference/animal-health-food/2014/Latvia-Animal-health-foodhygiene-proceedings2014-93.pdf>.

Birks, J.D.S. (1998). Secondary rodenticides poisoning risk arising from winter farmyard use by the European polecat *Mustela putorius*. *Biological Conservation*, 85 (3), 233-240. Acedido em Maio 20, 2016, disponível em [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(97\)00175-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(97)00175-4).

Brakes, C. R., Smith, R.H. (2005). Exposure of non-target small mammals to rodenticides short-term effects, recovery and implications for secondary poisoning. *Journal of Applied Ecology*, 42, 118-128. Acedido em Março 6, 2016, disponível em [https://www.researchgate.net/profile/Rob\\_Smith23/publication/229719805\\_Exposure\\_of\\_non-target\\_small\\_mammals\\_to\\_rodenticides\\_short-term\\_effects\\_recovery\\_and\\_implications\\_for\\_secondary\\_poisoning\\_J\\_Appl\\_Ecol/links/566a172808ae1a797e3792f3.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Rob_Smith23/publication/229719805_Exposure_of_non-target_small_mammals_to_rodenticides_short-term_effects_recovery_and_implications_for_secondary_poisoning_J_Appl_Ecol/links/566a172808ae1a797e3792f3.pdf).

Brown, P. R., Singleton, G. R. (1998). Efficacy of brodifacoum to control house mice, *Mus domesticus*, in wheat crops in Southern Australia. *Crop Protection*, 17(4), 345-352. Acedido em Abril 2, 2016, disponível em [10.1016/S0261-2194\(98\)00026-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)00026-X).

Carrapiço, B., Belas, A. (2013). Material de apoio à UC de Toxicologia Clínica, Faculdade de Medicina Veterinária, ULisboa.

CERVAS (2008). CERVAS - Centro de Ecologia, Recuperação e Vigilância de Animais Selvagens. Acedido em Janeiro 19, 2016, disponível em <http://cervas-aldeia.blogspot.pt/2008/01/cervas-centro-de-ecologia-recuperao-e.html>.

CERVAS (2010). Espécie do mês de Dezembro: Fuinha. Acedido em Janeiro 20, 2016, disponível em <http://cervas-aldeia.blogspot.pt/2010/12/especie-do-mes-de-dezembro-fuinha.html>.

Decreto de Lei 316/89 D.R. I Série A 219 (22-9-1989) 4224. Acedido em Março 24, 2017, disponível em <https://dre.pt/application/dir/pdf1sdip/1989/09/21900/42244227.pdf>.

Decreto de Lei 140/99 D.R. I Série A 96 (24-4-1999) 2183. Acedido em Março 24, 2017, disponível em <https://dre.pt/application/dir/pdf1sdip/1999/04/096A00/21832212.pdf>.

Decreto de Lei 202/2004 D.R. I Série A 194 (18-8-2004) 5318. Acedido em Março 24, 2017, disponível em <https://dre.pt/application/file/480645>.

Decreto de Lei 338/2001 D.R. I Série A 297 (26-12-2011) 8438. Acedido em Março 24, 2017, disponível em <https://dre.pt/application/dir/pdf1sdip/2001/12/297A00/84388471.pdf>.

Del Río, L., Chitimia, L., Cubas, A., Victoriano, I., De la Rúa, P., Gerrikagoitia, X., Barral, M., Muñoz-García, C.I., Goyena, E., García-Martínez, D., Fisa, R., Riera, C., Murcia, L., Segovia, M., Berriatua, E. (2014). Evidence for widespread *Leishmania infantum* infection among wild carnivores in *L. infantum* periendemic northern Spain. Preventive Veterinary Medicine, 113, 430-435. Acedido em Janeiro 14, 2016, disponível em <http://www.eurnegvec.org/publications/papers/Del%20Rio%20et%20al%202014.pdf>.

Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (2017). Listagem de Biocidas de Uso Veterinário Autorizados. Acedido em Março 23, 2017, disponível em <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=17307&cboui=17307>.

Domínguez-Peñafiel, G., Giménez-Paro, C., Gegúndez, M.I., Lledó, L. (2011). Prevalence of ectoparasitic arthropods on wild animals and in cattle in the Las Merindades area (Burgos, Spain). Parasite journal, 18, 251-260. Acedido em Janeiro 14, 2016, disponível em <http://www.parasite-journal.org/articles/parasite/pdf/2011/03/parasite2011183p251.pdf>.

Eason, C.T., Wright, G.R., Batcheler, D. (1996). Anticoagulant effects and the persistence of brodifacoum in possums (*Trichosurus vulpecula*), New Zealand Journal of Agricultural Research, 39(3), 397-400, acedido em Maio 18, 2016, disponível em [10.1080/00288233.1996.9513199](http://www.nzjag.org.nz/10.1080/00288233.1996.9513199).

Eason, C. T., Murphy, E. C., Wright, G.R., Spurr, E.B. (2002). Assessment of risks of Brodifacoum to non-target birds and mammals in New Zealand. Ecotoxicology, 11, 35-48. Acedido em Fevereiro 16, 2016, disponível em [https://www.researchgate.net/publication/263597953\\_Assessment\\_of\\_Risks\\_of\\_Brodifacoum\\_to\\_Non-target\\_Birds\\_and\\_Mammals\\_in\\_New\\_Zealand](https://www.researchgate.net/publication/263597953_Assessment_of_Risks_of_Brodifacoum_to_Non-target_Birds_and_Mammals_in_New_Zealand).

Elmeros, M., Christensen, T.K., Lassen, P. (2011a). Concentrations of anticoagulant rodenticides in stoats *Mustela erminea* and weasels *nivalis* from Denmark. Science of The Total Environment, 409(12), 2373–2378. Acedido em Abril 12, 2016, disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.03.006>.

Elmeros, M., Christensen, T.K., Lassen, P. (2011b). High exposure rates of anticoagulant rodenticides in carnivorous birds and mammals in Danish landscapes. 8<sup>th</sup> European Vertebrate Pest Management Conference, Julius-Kühn-Archiv, 432. Acedido em Abril 12, 2016, disponível em [10.5073/jka.2011.432.078](http://www.jka.uni-kl.de/10.5073/jka.2011.432.078).

Elliott, J., Hindmarch, S., Albert, C., Emery, J., Mineau, P., Maisonneuve, F. (2014). Exposure pathways of anticoagulant rodenticides to nontarget wildlife. Environ Monit Assess, 186(2), 895-906. Acedido em Março 22, 2017, disponível em [10.1007/s10661-013-3422-x](http://www.sciencedirect.com/10.1007/s10661-013-3422-x).

Erickson, W., Urban, D. (2004) Potential risks of nine rodenticides to birds and non-target mammals: a comparative approach. United States Environmental Protection Agency Washington. Acedido em Junho 19, 2016, disponível em [dx.doi.org/10.3996/052012-JFWM-042.S4](http://dx.doi.org/10.3996/052012-JFWM-042.S4)

Fenelon, J. C., Lefèvre, P. L., Banerjee, A., Murphy B. D. (2016). Regulation of diapause in carnivores. *Reproduction on domestic animals*, 52 (52), 12-17. Acedido em Junho, 13, 2017, disponível em <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/rda.12835/full>.

Fournier-Chambrillon, C., Berny, F.J., Coiffier, O., Barbedienne, P., Dassé, B., Delas, G., Galineau, H., Mazet, A., Pouznec, P., Rosoux, R., & Fournier, P. (2004). Evidence of secondary poisoning of free-ranging riparian mustelids by anticoagulant rodenticides in France: implications for conservation of european mink (*Mustela lutreola*). *Journal of Wildlife Disease*, 40(4), 688-695. Acedido em Junho 18, 2016, disponível em <http://www.bioone.org/doi/abs/10.7589/0090-3558-40.4.688>.

Frölich, K., Czupalla, O., Hass, L., Hentschke, K., Dedek, J., Ficke, J. (2000). Epizootiological investigations of canine distemper virus in free-ranging carnivores from Germany. *Veterinary Microbiology*, 74, 283-292. Acedido em Julho 13, 2017, disponível em [10.1016/S0378-1135\(00\)00192-9](http://10.1016/S0378-1135(00)00192-9).

Gamelin, L., Harry, P. (2005). Rodenticides. *EMC-Toxicologie Patologie*, 2(3), 89-97. Acedido em Junho 16, 2016, disponível em [https://www.researchgate.net/publication/257695306\\_Rodenticides](https://www.researchgate.net/publication/257695306_Rodenticides).

Geduhn, A., Jacob, J., Schenke, D., Keller, B., Ester, A. (2015). Relation between Intensity of Biocide Pesticide Practice and Residues of Anticoagulant Rodenticides in Red Foxes (*Vulpes vulpes*). *PLoS ONE* 10(9). Acedido em Maio 30, 2016. Disponível em [e0139191.doi:10.1371/journal.pone.0139191](http://e0139191.doi:10.1371/journal.pone.0139191)

Genovesi, P., Boitani, L. (1997). Social ecology of the Stone marten in central Italy. *Martes: taxonomy, ecology, techniques and management*. In G. Proulx, H.N. Bryant & P. M. Woodard (Eds.), *Martes: taxonomy, ecology, techniques and management*. (pp.110-120). Edmonton: Provincial Museum of Alberta. Acedido em Fevereiro 3, 2016, disponível em [https://books.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=oh2BT9Hmo-QC&oi=fnd&pg=PA110&dq=social+ecology+of+the+stone+marten+in+central+italy&ots=bB39OCSOqJ&sig=geCPqzb-eSzV03n5DcdEUR8dbzk&redir\\_esc=y#v=onepage&q=social%20ecology%20of%20the%20stone%20marten%20in%20central%20italy&f=false](https://books.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=oh2BT9Hmo-QC&oi=fnd&pg=PA110&dq=social+ecology+of+the+stone+marten+in+central+italy&ots=bB39OCSOqJ&sig=geCPqzb-eSzV03n5DcdEUR8dbzk&redir_esc=y#v=onepage&q=social%20ecology%20of%20the%20stone%20marten%20in%20central%20italy&f=false).

Han, B., Kramer, A., Drake, J. (2016). Global patterns of zoonotic disease in mammals. *Trends in parasitology*, 32(7), 565-577. Acedido em Setembro 15, 2016, disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2016.04.007>.

Hernández, M., Margalida, A. (2009). Poison related mortality effects in the endangered Egyptian vulture (*Neophron percnopterus*) population in Spain. *European Journal of Wildlife Research*, 55(4), 415-423. Acedido em Outubro 16, 2016, disponível em <https://link.springer.com/article/10.1007/s10344-009-0255-6>.

Herr, J. (2008). Ecology and behaviour of urban Stone martens (*Martes foina*) in Luxembourg. Ph.D. Thesis. Sussex: School of Life Sciences, University of Sussex. Acedido em Janeiro 25, 2016, disponível em [http://www.carnivoreconservation.org/files/thesis/herr\\_2008\\_phd.pdf](http://www.carnivoreconservation.org/files/thesis/herr_2008_phd.pdf).

Herrmann, M. (1994). Habitat use and spatial organization by the Stone Marten. Pp 122-137, in *Martens, Sables and Fishers: Biology and conservation* (Buskirk, S.W., Harestad, A., Raphael, M., & R. A. Powell eds.). New York: Cornell University Press.

Hofmeester, T.R., van Wieren, S.E. (2015) Ticks parasitizing pine marten (*Martes martes*) and stone marten (*Martes foina*) – a literature review and preliminary data. Paper presented at Conference: 6th International Martes Symposium, At Krakow, Poland (2014). Acedido em Janeiro 14, 2016, disponível em [https://www.researchgate.net/publication/273767203\\_Ticks\\_parasitizing\\_pine\\_marten\\_Martes\\_martes\\_and\\_stone\\_marten\\_M\\_foina\\_-\\_a\\_literature\\_review\\_and\\_preliminary\\_data](https://www.researchgate.net/publication/273767203_Ticks_parasitizing_pine_marten_Martes_martes_and_stone_marten_M_foina_-_a_literature_review_and_preliminary_data).

Hugh-Jones, M.E., de Vos, V. (2002). Anthrax and wildlife. Rev. Sci Tech, 21(2), 359-383. Acedido em Setembro 14, 2016, disponível em [http://www.catsg.org/cheetah/05\\_library/5\\_3\\_publications/H/Hugh-Jones\\_%26\\_de\\_Vos\\_2002\\_Anthrax\\_in\\_wildlife.pdf](http://www.catsg.org/cheetah/05_library/5_3_publications/H/Hugh-Jones_%26_de_Vos_2002_Anthrax_in_wildlife.pdf).

Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas (2017). Plano Sectorial da Rede Natura 2000: *Neophron percnopterus*. Acedido em Março 24, 2017, disponível em <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/rn2000/resource/docs/rn-plan-set/aves/neo-percnopterus>.

Instituto Nacional de Saúde (2011). Pesticidas (On-line). Acedido em Fevereiro 18, 2016, disponível em <http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/772/1/Pesticidas%202011.pdf>.

International Union for Conservation of Nature (2016). The IUCN Red List of Threatened Species™. Acedido em Novembro 28, 2016, disponível em <http://www.iucnredlist.org/search>.

Iqbal, J., Asghar M.A., Ahmed A., Khan M.A., Jamil, K. (2014). Aflatoxins contamination in Pakistani brown rice: a comparison of TLC, HPLC, LC–MS/MS and ELISA techniques. Acedido em 27 Março, 2017, disponível em <http://dx.doi.org/10.3109/15376516.2014.948247>.

Koivisto, E., Koivisto, P., Hanski, I., Korkolainen, T., Vuorisalo, T., Karhilahti, A., Loivamaa, L., Koivisto, S. (2016). Prevalence of anticoagulant rodenticides in non-target predators and scavengers in Finland. Report of the Finnish Safety and Chemicals Agency (Tukes). Acedido em Março 22, 2017, disponível em [http://www.tukes.fi/Tiedostot/julkaisut/07032016\\_jyrsijamyrkky\\_raportti\\_Valmis.pdf](http://www.tukes.fi/Tiedostot/julkaisut/07032016_jyrsijamyrkky_raportti_Valmis.pdf).

Laakso, S., Suomalainen, K., Koivisto, S. (2010). Literature Review on Residues of Anticoagulant Rodenticides in Non-Target Animals. Nordic Council of Ministers, Copenhagen. Acedido em Março 23, 2017, disponível em <http://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:701554/FULLTEXT01.pdf>.

Lanszki, J., Sárdi, B., Széles, G. (2009). Feeding habits of stone martens in a Hungarian village and its surroundings. Natura Somogyiensis, 15, 231-246. Acedido em Fevereiro 23, 2016, disponível em <http://www.smmi.hu/termtud/ns/ns15/231-246.pdf>.

Lanszki, J., Morocz, A., Conroy, W. (2010). Diet of Eurasian otters (*Lutra lutra*) in natural habitats of the Gemenc Area (Danube-Drava National Park, Hungary) in early spring period. Natura Somogyiensis 17. Acedido em Julho 6, 2017, disponível em <http://www.smmi.hu/termtud/ns/ns17/315-326lanszki2.pdf>.

Lempp C, Jungwirth N, Grilo ML, Reckendorf A, Ulrich A, van Neer A, et al. (2017) Pathological findings in the red fox (*Vulpes vulpes*), stone marten (*Martes foina*) and raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*), with special emphasis on infectious and zoonotic agents in Northern Germany. PLoS ONE 12(4): e0175469. Acedido em Junho 26, 2017, disponível em <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175469>.



López-Martin, J. (2003). Aspectos de la ecología de la marta (*Martes martes* L. 1758) y la garduña (*M. Foina* Erx.1777) en los ambientes mediterrâneos: interacciones con la gineta (*Genetta genetta* L. 1758). Tesis doctoral. Barcelona: Facultat de Biologia – Universitat de Barcelona.

López-Perea, J., Camarero, P., Molina-López, M., Parpal, L., Obón, E., Solá, J., Mateo, R. (2015). Interspecific and geographical differences in anticoagulant rodenticide residues of predatory wildlife from the Mediterranean region of Spain. *Science of The Total Environment* 511, 259-267. Acedido em Maio 22, 2016, disponível em <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.12.042>.

Loy, A., Spinosi, O., Carlini, R. (2004). Cranial morphology of *Martes foina* and *M. martes* (Mammalia, Carnivora, *Mustelidae*): the role size and shape in sexual dimorphism and interspecific differentiation. *Italian Journal of Zoology*, 71(1), 27-35. Acedido em Maio 2, 2016, disponível em <http://dx.doi.org/10.1080/11250000409356547>.

Mackenstedt, U., Jenkins, D., Toming, T. (2015). The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. *Elsevier*, 4(1), 71-79. Acedido em Junho 28, 2017, disponível em <https://doi.org/10.1016/j.iippaw.2015.01.006>.

Marinis, A., Nikolov, H., Gerasimov, S. (1990). Identificazione del sesso e dimorfismo sessuale nel cranio della faina, *Martes foina* (Carnivora, *Mustelidae*). *HystU*, 2, 35-46. Acedido em Abril 3, 2017, disponível em <http://www.italian-journal-of-mammalogy.it/article/view/3897/3833>.

Martínez-Padilla, J., López-Idiáquez, D., López-Perea, J.J., Mateo, R., Paz, A., Viñuela, J. (2016). A negative association between bromadiolone exposure and nestling body condition in common kestrels: management implications for vole outbreaks. *Pest Manag Sci.*, 73(2), 364-370. Acedido em Março 23, 2017, disponível em [10.1002/ps.4435](https://doi.org/10.1002/ps.4435).

McDonald, R.A., Harris, S., Turnbull, G., Brown, P., Fletcher, M. (1998). Anticoagulant rodenticides in stoats (*Mustela erminea*) and weasels (*Mustela nivalis*) in England. *Environmental Pollution*, 103(1), 17-23. Acedido em Abril 22, 2017, disponível em [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(98\)00141-9](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(98)00141-9).

Meiri, S. (2005). Small carnivores on small islands. New data based on old skulls. *Small Carnivore Conservation*, 33(1), 21–23. Acedido em Abril 28, 2016, disponível em [http://www.tau.ac.il/lifesci/zoology/members/dayan\\_files/articles/small\\_carnivores.pdf](http://www.tau.ac.il/lifesci/zoology/members/dayan_files/articles/small_carnivores.pdf).

Moinet, M., Fournier-Chambrillon, C., André-Fontaine, G., Aulagnier, S., Mesplède, A., Blanchard, B., Descarsin, V., Dumas, P., Dumas, Y., Coic, C., Couzi, L., Fourier, P. (2010). Leptospirosis in free-ranging endangered european mink (*Mustela lutreola*) and other small carnivores (*Mustelidae*, *Viverridae*) from southwestern France. *Journal of wildlife diseases*, 46(4), 1141-1151. Acedido a Janeiro 14, 2016, disponível em <http://www.bioone.org/doi/pdf/10.7589/0090-3558-46.4.1141>.

Mourad, G., Woods, L., Poppenga, R., Sweitzer, R., Thompson, C., Matthews, S., Higley, J., Keller, S., Purcell, K., Barret, R., Wengert, G., Sacks, B., Clifford, D. (2012). Anticoagulant Rodenticides on our Public and Community Lands: Spatial Distribution of Exposure and Poisoning of a Rare Forest Carnivore. *PLoS ONE* 7(7). Acedido em Fevereiro 23, 2016, disponível em [10.1371/journal.pone.0040163](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0040163).

Muller, T., Cox, J., Peter, W., Schäfer, R., Johnson, N., McElhinney, L.M., Geue, J.L., Tjørnehøj, K., Fooks, A.R. (2004) Spill-over of European bat lyssavirus type 1 into a stone marten (*Martes foina*) in Germany. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 51(2), 49-54.

Acedido em Janeiro, 15, 2016, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15030600>.

Muñoz-Madrid, R., Belinchón-Lorenzo, S., Iniesta, V., Fernández-Cotrino, J., Parejo, J.C., Serrano, F.J., Monroy, I., Baz, V., Gómez-Luque, A., Gómez-Nieto, L.C. (2013). First detection of *Leishmania infantum* kinetoplast DNA in hair of wild mammals: application of qPCR method to determine potential parasite reservoirs. *Acta trop*, 128(3), 706-709. Acedido em Janeiro 14, 2016, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23973736>.

Nobrega, H. (2014). Pesticidas: Classificação, Propriedades, Toxicidade, Problemas e Soluções (On-line), Webartigos. Acedido em Fevereiro 18, 2016, disponível em <http://www.webartigos.com/artigos/pesticidas-classificacao-propriedades-toxicidade-problemas-e-solucoes/121404/>.

Oliveira, P., Oliveira, J., Colaço, A. (2002). Recolha e envio de amostras biológicas para o diagnóstico de intoxicações em carnívoros domésticos. *Revista Portuguesa de Ciências veterinárias*, 97 (544), 161-169. Acedido em Junho 15, 2016, disponível em [http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/PDF/pdf12\\_2002/544\\_161\\_169.pdf](http://www.fmv.ulisboa.pt/spcv/PDF/pdf12_2002/544_161_169.pdf).

Origgi, F.C., Wu, N., Pilo, P. (2013) *Francisella tularensis* infection in a stone marten (*Martes foina*) without classic pathological lesions consistent with tularemia. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25(4), 519-521. Acedido em Janeiro 14, 2016, disponível em <http://vdi.sagepub.com/content/25/4/519.full.pdf+html>.

Papakosta, M., Kitikidou, P., Bakaladouis, D., Vlachos, B. (2014). Dietary Variation of the Stone Marten (*Martes foina*): A Meta-Analysis Approach. *Wildl. Biol. Pract.*, 10(2): 85-101. Acedido em Junho 23, 2017, disponível em [10.2461/wbp.2014.10.11](http://dx.doi.org/10.2461/wbp.2014.10.11).

Pereira, F. (2011) Incidência de rodenticidas em aves de rapina: Estudo de prevalência e possíveis efeitos secundários. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.

Philippa J, Fournier-Chambrillon C, Fournier P, Schaftenaar W, van de Bildt M, van Herwijnen R, Kuiken T, Liabeuf M, Ditcharry S, Joubert L, Bégner M, Osterhaus A. (2008). Serologic survey for selected viral pathogens in free-ranging endangered European mink (*Mustela lutreola*) and other mustelids from south-western France. *Journal of Wildlife Diseases*, 44(4), 791-801. Acedido em Julho 13, 2017, disponível em <https://doi.org/10.7589/0090-3558-44.4.791>.

Pinto, B., Santos, M.J. (1997) Abundância e dieta de quatro carnívoros na Serra de Grândola. Acedido em Março 31, 2017, disponível em <http://natura.pt/article.aspx?menuid=2&cid=8833&bl=1&viewall=true>.

Powell, R. A. (2001). Martens. In Macdonald, D.W. (Ed.), *The new encyclopedia of Mammals*. (pp. 106-107). Oxford: Oxford University Press.

Programa Antídoto Portugal: Estratégia Nacional contra o uso de venenos (2004). Acedido em Fevereiro 3, 2016, disponível em [http://www.antidoto-portugal.org/portal/user/documentos/Estrategia\\_Versaofinal.pdf](http://www.antidoto-portugal.org/portal/user/documentos/Estrategia_Versaofinal.pdf).

Rengel, I. & Friedrich, A. (1993). Detection of anticoagulant rodenticides (4-Hydroxycoumarins) by thin-layer chromatography and reversed-phase high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Veterinary Research Communications*, 17, 421-427. Acedido em Março 27, 2017, disponível em <http://link.springer.com/article/10.1007/BF01839210>.

Riley, S.P.D., Bromley, C., Poppenga, R., Uzal, F., Wited, L., Sauvajot R. (2007). Anticoagulant Exposure and Notoedric Mange in Bobcats and Mountain Lions

in Urban Southern California. *Journal of Wildlife Management* 71(6):1874-1884. Acedido em Agosto, 23, 2016, disponível em [hcarrrattp://dx.doi.org/10.2193/2005-615](http://dx.doi.org/10.2193/2005-615).

Rodríguez, M., Ollala-Tárraga, M., Hawkns, B. (2008). Bergmann's rule and the geography of mammal body size in the Western Hemisphere. *Global Ecology and Biogeography*, 17, 274-283. Acedido em Julho, 17, 2017, disponível em [10.1111/j.1466-8238.2007.00363.x](http://dx.doi.org/10.1111/j.1466-8238.2007.00363.x).

Rosalino, L. M., Santos, M. J., Domingos, S., Rodrigues, M., Santos-Reis, M. (2005). Estrutura populacional e dimensões corporais de carnívoros simpátricos num ecossistema Mediterrânico do Sudoeste Português. *Revista Biol. (Lisboa)*, 23, 135-146. Acedido em Março, 30, 2017, disponível em [https://www.researchgate.net/profile/Luis\\_Rosalino/publication/230785539\\_Population\\_structure\\_and\\_body\\_size\\_of\\_sympatric\\_carnivores\\_in\\_a\\_Mediterranean\\_landscape\\_of\\_SW\\_Portugal/links/0912f510058c61f6eb000000.pdf?origin=publication\\_detail](https://www.researchgate.net/profile/Luis_Rosalino/publication/230785539_Population_structure_and_body_size_of_sympatric_carnivores_in_a_Mediterranean_landscape_of_SW_Portugal/links/0912f510058c61f6eb000000.pdf?origin=publication_detail).

Rueda, D., Campbell, K., Fisher, P., Cunningham, F., Ponder, J. (2016). Biologically significant residual persistence of brodifacoum in reptiles following invasive rodent eradication, Galapagos Islands, Ecuador. *Conservation Evidence*, 13, 38. Acedido em Março 23, 2017, disponível em [www.conservationevidence.com/reference/download/5567](http://www.conservationevidence.com/reference/download/5567).

Sanchez-Barbudo, I., Camarero, P.R., Mateo, R. (2012) Primary and secondary poisoning by anticoagulant rodenticides of non-target animals in Spain (On-line). *Science of The Total Environment*, 420, 280-288. Acedido em Março 23, 2016, disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.01.028>.

Santos, M.J., Matos, H.M. (2012). Fuinha (*Martes foina*): a nossa vizinha. Pp 109-119 em: Um olhar sobre os carnívoros portugueses (Loureiro, F.; Pedroso, N.M.; Santos, M.J. & Rosalino, L.M., eds). CARNIVORA. Lisboa.

Santos, M.J., Santos-Reis, M. (2009). Stone marten (*Martes foina*) habitat in Mediterranean ecosystem: effects of scale, sex, and interspecific interactions. *European Journal of Wildlife Research*. Acedido em Outubro 27, 2015, disponível em <http://www.researchgate.net/publication/225447773>.

Santos, N., Almendra, C., Tavares, L. (2009). Serologic Survey for Canine Distemper Virus and Canine Parvovirus in free-ranging wild carnivores from Portugal. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(1), 221-226. Acedido em Janeiro 15, 2016, disponível em <http://www.bioone.org/doi/pdf/10.7589/0090-3558-45.1.221>.

Santos-Reis, M., Santos, M.J., Lourenço, S., Marques, J.T., Pereira, I., Pinto, B. (2005). Relationships between Stone martens, Genets and cork oak woodlands in Portugal. Pp 147-172 in: *Martens and Fishers (Martes) in Human-Altered Environments* (Harrison, D.J., Fuller, A., Proulx, G., eds). Springer US. Maine.

Serieys, L., Armenta, T., Moriarty, G., Riley, S. (2015). Anticoagulant rodenticides in urban bobcats: exposure, risk factors and potential effects based on a 16-year study. Springer Science+Business Media New York. Acedido em Março 22, 2017, disponível em [10.1007/s10646-015-1429-5](http://dx.doi.org/10.1007/s10646-015-1429-5).

Sherma, J. (2003). Basic TLC techniques, materials and apparatus. Pp 1-62 in: *Handbook of thin-layer chromatography* (Sherma, J., Fried, S., eds.). Marcel Dekker Inc.. Easton, Pennsylvania, USA.

Shore, R.F., Birks, J.D.S., Afsar, A., Wienburg, C.L., Kitchener, A.C. (2003). Spatial and temporal analysis of second-generation anticoagulant rodenticide residues in polecats

(*Mustela putorius*) from throughout their range in Britain, 1992–1999. Environmental pollution, 122, 183-193. Acedido em Abril 4, 2017, disponível em <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.965.2476&rep=rep1&type=pdf>.

Smith, R.H., Cox, P.R., Rampaud, M. (1990). Rodenticide Ecotoxicology: Systems analysis and simulation. *Proceedings of the Fourteenth Vertebrate Pest Conference 1990*. Paper 75. Acedido em Maio 21, 2016, disponível em <http://digitalcommons.unl.edu/vpc14/75>.

Sobrino, R., Cabezón, O., Millán, J., Pabón, M., Arnal, M.C., Luco, D.F., Gortázar, C., Dubey, J.P., Almeria, S. (2007). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in wild carnivores from Spain. *Vet parasitol*, 148(3-4), 187-192. Acedido em Abril 5, 2017, disponível em <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.038>.

Sobrino, R., Dubey, J.P., Pabón, M., Linarez, N., Kwok, O.C., Millán, J., Arnal, M.C., Luco, D.F., López-Gatius, F., Thulliez, P., Gortázar, C., Almería, S. (2008a). Neospora caninum antibodies in wild carnivores from Spain. *Vet Parasitol*, 155 (3-4), 190-197. Acedido em Abril 5, 2017, disponível em <https://naldc.nal.usda.gov/download/26711/PDF>.

Sobrino, R., Ferroglio, E., Oleaga, A., Romano, A., Millan, J., Revilla, M., Arnal, M.C., Trisciuglio, A., Gortázar, C. (2008b). Characterization of widespread canine leishmaniasis among wild carnivores from Spain. *Vet Parasitol*, 155(3-4), 198-203. Acedido em Abril 5, 2017, disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18579311>.

Stone, W. B., Okoniewski, J. C., Stedelin, J. R. (1999). Poisoning of wildlife with anticoagulant rodenticides in New York. *Journal of Wildlife diseases*, 35(2), 187-193. Acedido em Abril, 13, 2017, disponível em [http://www.dec.ny.gov/docs/wildlife\\_pdf/rodenticides99.pdf](http://www.dec.ny.gov/docs/wildlife_pdf/rodenticides99.pdf).

Stone, W. B., Okoniewski, J. C., Stedelin, J. R. (2003). Anticoagulants rodenticides and raptors: recent findings from New York, 1998-2001. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 70:34–40. Acedido em Julho 3, 2017, disponível em [10.1007/s00128-002-0152-0](https://doi.org/10.1007/s00128-002-0152-0).

Tavernier, P., Baert, K., van de Bildt, M., Kuiken, T., Cay, A., Maes, S., Roels, S., Gouwy, J., Van de Berge, K. (2012) A distemper outbreak in beech martens (*Martes foina*) in Flanders. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 81. Acedido em Abril 5, disponível em <http://vdt.ugent.be/sites/default/files/art81203.pdf>.

Thorsen, M., Shorten, R., Lucking, R., Lucking, V. (2000). Norway rats (*Rattus norvegicus*) on Frégate Island, Seychelles: the invasion, subsequent eradication attempts and implications for the island's fauna. *Biological conservation*, 96, 133-138. Acedido em Março 15, 2017, disponível em [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(00\)00059-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(00)00059-8).

Touchstone, J.C. (1992). Basics of thin layer chromatography. Pp 1-12 in: *Practice of thin layer chromatography* (Touchstone, J.C., ed.). John Wiley & Sons, Inc., Publication. United States of America.

Valchev, I., Binev, R., Yordanova, V., Nikolov, Y. (2008). Anticoagulant rodenticide intoxication in animals – a review. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, 32(4), 237-243. Acedido em Abril 2, 2017, disponível em <http://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/issues/vet-08-32-4/vet-32-4-1-0607-12.pdf>.

Virgós, E., Cabezas-Díaz, S., Mangas, J.G., Lozano, J. (2010) Spatial distribution models in a frugivorous carnivore, the stone marten (*Martes foina*): is the fleshy-fruit available a useful predictor? *Animal Biology*, 60, 423–436. Acedido em Janeiro 8, 2017, disponível em [https://pdfs.semanticscholar.org/1e33/2291830b649f5d06ba4cf707ee1e118402b6.pdf?\\_ga=2.48993638.1175392365.1500310781-1809937643.1500310781](https://pdfs.semanticscholar.org/1e33/2291830b649f5d06ba4cf707ee1e118402b6.pdf?_ga=2.48993638.1175392365.1500310781-1809937643.1500310781).

WildinFrance (2016). Stone Marten. Acedido em Novembro 27, 2016, disponível em <http://www.wildlifeinfrance.com/pine-marten-stone-marten-in-france.html>.

## 8. Anexos:

### Anexo 1: Tabelas de bases de dados da população de fuinhas que ingressaram no CERVAS:

**Tabela 6** Base de dados das amostras de fuinhas utilizadas (informações demográficas).

Estado de entrada	Data ingresso	Idade	Sexo	Causa Ingresso	Estado	Freguesia	Concelho	Distrito
M	09-01-2009	A	M	Atropelamento	Morto	Vale de Amoreira	Manteigas	Guarda
V	15-04-2009	A	F	Cativeiro Acidental	Libertado	Gouveia (São Pedro)	Gouveia	Guarda
V	16-04-2009	A	M	Cativeiro Acidental	Libertado	Gouveia (São Pedro)	Gouveia	Guarda
M	06-06-2009	A	M	Atropelamento	Morto	Santa Maria	Manteigas	Guarda
V	30-09-2009	J	F	Cativeiro Acidental	Morreu após 2 dias	Gouveia (São Pedro)	Gouveia	Guarda
M	24-11-2009	A	F	Desconhecida	Morto	Freixo de Espada à Cinta	Freixo de Espada à Cinta	Bragança
M	24-11-2009	A	M	Atropelamento	Morto	Vila Nova de Foz Côa	Vila Nova de Foz Côa	Guarda
M	11-03-2010	A	F	Atropelamento	Morto	Vale Formoso	Covilhã	Castelo Branco
V	02-06-2010	J	M	Orfão	Libertado	Nabais	Gouveia	Guarda
V	26-10-2010	A	F	Atropelamento	Morreu após 1 mês	Santos Evos	Viseu	Viseu
M	08-02-2011	A	M	Atropelamento	Morto	Moimenta da Beira	Moimenta da Beira	Viseu

<b>V</b>	21-03-2011	I	F	Intoxicação/Envenenamento	Morreu em 2 dias	Lapa dos Dinheiros	Seia	Guarda
----------	------------	---	---	---------------------------	------------------	--------------------	------	--------

**Tabela 6** Base de dados das amostras de fuinhas utilizadas (informações demográficas)  
(Continuação).

<b>M</b>	14-04-2011	I	M	Atropelamento	Morto	Figueiró da Serra	Go uve ia	Guarda
<b>V</b>	23-06-2011	J	F	Cativeiro Acidental	Libertado	São Julião	Go uve ia	Guarda
<b>M</b>	09-07-2011	A	F	Atropelamento	Morto	Seia	Sei a	Guarda
<b>V</b>	16-11-2011	A	F	Atropelamento	Libertado	Sarzeda	Ser nan cel he	Viseu
<b>M</b>	30-12-2011	A	F	Atropelamento	Morto	Lajeosa	Ton del a	Viseu
<b>M</b>	12-03-2012	I	M	Atropelamento	Morto	Caçarel hos	Vim ios o	Bragança
<b>M</b>	12-03-2012	A	F	Atropelamento	Morto	Atenor	Mir and a do Do uro	Bragança
<b>M</b>	24-03-2012	A	F	Atropelamento	Morto	Vinhó	Go uve ia	Guarda
<b>M</b>	27-04-2012	A	I	Atropelamento	Morto	Sarzedo	Moi me nta da Beir a	Viseu
<b>V</b>	17-06-2012	A	I	Cativeiro Acidental	Libertado	Aldeias	Go uve ia	Guarda
<b>M</b>	13-09-2012	A	I	Atropelamento	Morto	Gouveia (São Pedro)	Go uve ia	Guarda
<b>M</b>	24-10-2012	A	I	Atropelamento	Morto	Alijó	Alij ó	Vila Real
<b>M</b>	24-10-2012	A	I	Atropelamento	Morto	Alfânde ga da Fé	Alfâ nde ga da Fé	Bragança
<b>M</b>	25-08-2012	A	I	Atropelamento	Morto	Meda	Me da	Guarda
<b>M</b>	24-10-2012	A	I	Atropelamento	Morto	Meda	Me da	Guarda
<b>M</b>	08-01-2013	A	M	Atropelamento	Morto	Trindad e	Vila Flor	Bragança
<b>M</b>	07-02-2013	A	F	Atropelamento	Morto	Torrozel o	Sei a	Guarda
<b>V</b>	07-07-2013	A	M	Atropelamento	Morreu em 2 dias	Viseu (São José)	Vis eu	Viseu

**Tabela 6** Base de dados das amostras de fuinhas utilizadas (informações demográficas)  
(Continuação).

<b>V</b>	18-12-2013	A	F	Debilidade/Desnutrição	Libertado	Guarda (São Vicente)	Guarda	Guarda
<b>M</b>	06-07-2014	A	I	Atropelamento	Morto	São Paio	Goúveia	Guarda
<b>M</b>	21-07-2014	A	M	Atropelamento	Morto	Celorico (São Pedro)	Celorico da Beira	Guarda
<b>M</b>	21-07-2014	A	M	Atropelamento	Morto	Celorico (São Pedro)	Celorico da Beira	Guarda
<b>M</b>	13-09-2014	J	M	Atropelamento	Morto	Lousã	Lousã	Coimbra
<b>V</b>	14-10-2014	A	M	Atropelamento	Morreu após 2 dias	Oliveira do Hospital	Oliveira do Hospital	Coimbra
<b>M</b>	17-05-2015	A	F	Atropelamento	Morto	Figueira de Castelo Rodrigo	Figueira de Castelo Rodrigo	Guarda
<b>M</b>	17-05-2015	A	F	Atropelamento	Morto	Figueira Castelo Rodrigo	F.C.R.	Guarda
<b>M</b>	17-05-2015	A	F	Atropelamento	Morto	Azinhal	Almeida	Guarda
<b>M</b>	17-05-2015	A	F	Atropelamento	Morto	Figueira Castelo Rodrigo	F.C.R.	Guarda



**Tabela 7** Base de dados das amostras de fuinhas utilizadas (informações biométricas).

S e x o	Id a d e	Pe s o (g)	Cabeç a (C) (cm)	Cabeç a (L) (cm)	Orelha (C) (cm)	Oelha (L) (cm)	Corp o (cm)	Corpo + Cauda (cm)	Cau da (cm)	Altura ao garrote (cm)	Braç o (cm)	Pata posterior (cm)
M	A	1314	69,5	25,5	22	10,5	230	660	430	190	114	85
M	A	1500	96		39	32	455	720	265	205		90
F	A	1303	86	48	34	23	420	690	270	195	115	85
F	A	1010	97		40	32	455	685	250	195		
M	J	1413	90	49	35	25	425	670	230	210	125	95
M	I	1250	92	51	36	27	430	780	240	205		90
F	A	1275,6	78	45	30,6	20	410	673	263	195	115	97
F	A	1145	92	52	36	27	430	651	240	156		83
F	A	1289	135				460	653	262	160		82
M	A		92	52	36	27	433	695	240	200		
F	A	1602					480	729	249	134		82
F	A	1200					495	715	220	117		68
F	J	1357					500	700	200	175		80
F	A	1186					522	610	88	180		73
F	A	1230	91	49	35	26	425	640	230	190		86
M	A	1778	73	40	28	15	340	795	455	210	120	90
M	A		90 (esmagada)				460	750	290	207		90
M	A						460	700	240	216		85
M	A		92	54	36	27	440	690	250	190		
M	J						463	670	207	175		79
F	A	972	91	50	36	26	425	710	285	190		
M	A		93	27 (esmagada)	37	28	450	720	270	190		
M	A		93		37,5	29	450	700	245	192		
F	A	1212	94		38	30	450	695	245	185		
M	A		96		39	31	450	720	270	190		
F	A	1353	85	48	33	21	420	673	253	206	120	85
M	A	1853	78	44	30	17	400	700	300	205	135	100
F	A	2800	87	49	34	24	425	630	205	185	110	80
M	A	1051	103		41		460	690	230	185		82

**Tabela 7** Base de dados das amostras de fuinhas utilizadas (informações biométricas) (continuação).

M	A						470	669	199	207		85
F	J	1183	76	44	30	17	380	660	280	190	110	85
F	J	899,57	80	45,5	32	20,6	411	765	354	200	110	

Legenda: C- Comprimento; L – Largura; M- Macho; F- Fêmea; A- Adulto; J- Juvenil.

## **Anexo 2: Protocolo de recolha de dados morfométricos efetuado no CERVAS:**

Faz parte do protocolo de necrópsia recolher as biometrias dos cadáveres dos animais, caso estejam em condições para tal. De seguida segue o protocolo efetuado no CERVAS, relativamente a mamíferos.

1. Medição do comprimento da cabeça: entre a extremidade distal do nariz e a base do craneo.
2. Medição da largura da cabeça: entre o limite esquerdo e direito do craneo.
3. Medição do comprimento da orelha: entre a extremidade distal e o ponto de contacto com a cabeça.
4. Medição da largura da orelha: entre o limite esquerdo e direito.
5. Medição do comprimento do corpo: entre a base do craneo e a última vértebra coccígea.
6. Medição do comprimento do corpo mais cauda.
7. Medição da cauda: entre a primeira vértebra caudal e a extremidade distal da cauda (incluindo pêlo).
8. Medição da altura ao garrote: entre o garrote (fim do pescoço em linha com a escápula) até à extremidade distal do membro anterior.
9. Medição da pata posterior: entre a extremidade proximal do fémur e a extremidade distal do membro.

### **Anexo 3: Protocolo de necrópsia efetuado em mamíferos no CERVAS:**

Aquando da entrada de animais mortos ou da morte do animal nas instalações, o procedimento seguinte será sempre a necrópsia, com registo de todas as alterações encontradas e posterior armazenamento das amostras retiradas. De seguida segue o protocolo efetuado no CERVAS, relativamente a mamíferos.

1. Avaliação externa:
  - a. Condição corporal,
  - b. Pele, procura de parasitas, feridas, etc.
  - c. Estado das cavidades naturais e mucosas;
  - d. Palpação para procura de massas, fraturas, etc.
2. Medição das dimensões do cadáver.
3. Rebatimento e desarticulação dos membros anteriores a nível da cintura escapular e dos membros posteriores a nível da articulação coxo-femoral.
4. Dissecção da pele através de uma incisão mento-pubiana e observação de possíveis lesões.
5. Rebatimento dos tecidos a nível abdominal por meio de uma incisão muscular e peritoneal desde a cartilagem xifóide até ao púbis, através da linha alba.
6. Desarticulação costochondral em todos os pontos de fixação das costelas, retirar o esterno (preservando o diafragma), rebatimento das costelas e observação da cavidade abdominal.
7. Incisão junto aos ramos mediais da mandíbula, desarticulação do hioide, remoção do conjunto língua-esófago-traqueia-pulmão-corção e observação da cavidade torácica.
8. Exame dos órgãos do aparelho respiratório e cardíaco e recolha de amostras.
9. Extração, exploração e recolha de amostras dos órgãos da cavidade abdominal (sistema digestivo e génito-urinário).
10. Visualização da coluna.
11. Se o historial clínico justificar, abertura do crânio e exame do cérebro.

**Anexo 4: Tabela dos pesos dos órgãos das amostras seleccionadas para análise toxicológica.**

**Tabela 8** Tabela dos pesos dos órgãos das amostras seleccionadas para análise toxicológica.

Nº da amostra	Fígado	Fígado amostra	Rim 1	Rim 2	Pulmão	Coração	Baço	Bexiga+Uterero	Sangue	Gastro
F1	45,2	20,9	6	5,8	32,6	9,5	5,7			X
F2	41,6	20,0	5,7	6,8	4,1	12,4				
F3	41,0	20,2			31,8	9,4	8		X	X
F4	39,7	20,0	4,7	4,6	22,2	10,3				
F5	39,1	20,3	5,3			13,9				
F6	37,5	20,5	4,4	4	12,6	11,8				
F7	33,5	20,2			7,7	9,3				
F8	32,5	19,6	7(2)		26					X
F9	30,9	20,1								
F11	29,5	19,8	4,1	5,5	20,8	12,1				
F12	29,5	20,2	5,1	3,9	16,5	9	6,8		X	X
F13	27,7	20,0			14,8	10,8				
F15	27,4	19,5	6,6	6,1	11,6	10,1				X
F23	26,8	20,5	4,2	3,6	21,3	8,7				X
F16	21,7	21,7	4,1	4,2	20,9	10				X
F17	21,5	21,5	6,6	6,8		9,8				
F18	19,0	19,0	4,2	4,8	18,1	10,1	2,1	4,7		
F19	17,2	17,2	6,5		5,8	14				X
F20	15,3	15,3			16,4	12,3				
F21	15,2	15,2			9,2	12,7				
F22	12,5	12,5			5,7	15,8				

## **Anexo 5: Protocolo da técnica de Cromatografia de Camada Fina utilizado.**

A CCF, técnica que já sofreu destaque acima, foi o método utilizado na análise da amostragem em estudo, seguindo-se uma breve explicação do protocolo utilizado.

### **1. Preparação da amostra:**

- a. Pesagem da amostra: quantidade mínima da amostra de fígado necessária para análise de RAC: 20g.
- b. Maceração do fígado, juntando-o a uma solução de acetona:clorofórmio (1:1) – a substância que se encontrar na amostra irá se dissolver no solvente.
- c. Tapa-se com parafilme (compostos voláteis) e mete-se no “agitador”, para haver um maior contacto da entre a amostra e o solvente.
- d. Separa-se o solvente e junta-se igual quantidade de água destilada (para purificar a amostra), para de seguida se decantar. Coloca-se na ampola de decantação e separa-se apenas a solução “purificada” - água destilada com impurezas é menos densa.
- e. Junta-se sulfato de sódio para tornar o passo seguinte mais rápido , pois esta substância absorve água.
- f. Elimina-se o sulfato de sódio e a amostra vai para o evaporizador até não haver resíduos.

### **2. Desenvolvimento do cromatograma:**

- a. Aplicação da solução padrão – dissolvida em acetona (1 mg/ml) – na zona de partida.
- b. Aplicação da amostra – saturando-a num único ponto da placa de sílica, sem deterioração desta.
- c. Migração da fase móvel escolhida: n-hexano:acetona (2:1), através da placa.
- d. Nesta fase junta-se o solvente acetona para extração da amostra, agora sem os resíduos orgânicos.

Em cada placa cromatográfica fez-se correr várias amostras ao mesmo tempo juntamente com a solução padrão. Todas as amostras seleccionadas foram testadas para a presença de quatro dos rodenticidas mais comuns: Difenanicume, Bromadiolona, Brodifacume e Coumatetraril. Depois da fase móvel percorrer a fase fixe até ao limite previamente marcado, seca-se a placa e observa-se no espectrofotómetro.

### **3. Avaliação do cromatograma:**

- a. Observação à luz UV -> Identificação da mancha do composto.
- b. Aplicação de reagentes de visualização – KOH (hidróxido de potássio) e  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (ácido sulfúrico).

Como citado anteriormente, em casos dúbios ou em necessidade de se testar a reação química da amostra com uma substância em particular, pulveriza-se o reagente específico

sobre a placa, que depois de seca irá mudar de cor. Realizaram-se estes testes complementares nas placas com a amostra padrão Brodifacume e Difenanicume, para confirmação de resultado que se mostrava duvidoso. Pulverizando-as com o reagente da estricnina e KOH, respetivamente.

**Anexo 6: Tabelas de resultados da análise estatística:**

**Tabela 9** Tabela de contingência e prova de Qui-quadrado relacionando as variáveis Idade/Causa de ingresso por atropelamento.

		VAR00001		Total
		Atropelamento	O	
VAR00002	A	28	6	34
	I	1	0	1
	J	2	3	5
Total		31	9	40

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	4,782 <sup>a</sup>	2	,092
Likelihood Ratio	4,235	2	,120
N of Valid Cases	40		

**Tabela 10** Tabela de contingência e prova de Chi-quadrado relacionando as variáveis Sexo/Causa de ingresso por atropelamento.

		VAR00001		Total
		A	O	
VAR00002	F	14	6	20
	I	0	1	1
	M	17	2	19
Total		31	9	40

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	5,652 <sup>a</sup>	2	,059
Likelihood Ratio	5,432	2	,066
N of Valid Cases	40		